

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**ANGELA CRISTINA KOPPER**

**BEBIDA SIMBIÓTICA ELABORADA COM FARINHA DE BOCAIUVA (*Acrocomia aculeata*) E *Lactobacillus acidophilus* INCORPORADAS AO EXTRATO  
HIDROSSOLÚVEL DE SOJA**

**CURITIBA**

**2009**

**ANGELA CRISTINA KOPPER**

**BEBIDA SIMBIÓTICA ELABORADA COM FARINHA DE BOCAIUVA  
(*Acrocomia aculeata*) E *Lactobacillus acidophilus* INCORPORADAS AO  
EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani

**CURITIBA**

**2009**

Kopper, Ângela Cristina

Bebida simbiótica elaborada com farinha de Bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) e *Lactobacillus acidophilus* incorporadas ao extrato hidrossolúvel de soja / Ângela Cristina Kopper. – Curitiba, 2009.

78 f.: il. , tabs, grafs.

Orientadora: Rosemary Hoffmann Ribani

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná.

Inclui Bibliografia.

1. Leite de soja. 2. Tecnologia de alimentos. 3. Vitamina A I. Ribani, Rosemary Hoffmann. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 663.64


**ANGELA CRISTINA KOPPER**

**BEBIDA SIMBIÓTICA ELABORADA COM FARINHA DE BOCAIUVA (*Acrocomia aculeata*) E *Lactobacillus acidophilus* INCORPORADOS AO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MÁRCIA REGINA BEUX  
Setor de Ciências Biológicas, UFPR

  
Dr<sup>a</sup>. SÔNIA CACHOEIRA STERTZ  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 31 de agosto de 2009

## RESUMO

Os consumidores cada vez mais preocupados com sua saúde estão procurando por opções de alimentação mais saudável que possam proporcionar benefícios à saúde e também satisfazer suas necessidades energéticas. Atualmente, são lançados no mercado diversos novos produtos, sendo que, especificamente na área de laticínios, ênfase tem sido dada no desenvolvimento de produtos probióticos e/ou prebióticos. (simbióticos). Probióticos e prebióticos são alimentos funcionais e nutraceuticos, que beneficiam a saúde mantendo o balanço da flora intestinal, reduzindo a má absorção da lactose, aumentando a proteção contra infecções intestinais, entre outros. Os primeiros são micro-organismos vivos adicionados na dieta (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus acidophilus*) e os prebióticos são ingredientes alimentícios não digeríveis e que seletivamente favorecem o crescimento de bactérias benéficas. Alimentos que contém pró e prébióticos são denominados simbióticos. O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) contém oligossacarídeos naturais como a rafinose e estaquiose, considerados como prebióticos ao estimular o crescimento de probióticos, sendo uma alternativa como base para várias bebidas de consumo para pessoas que apresentam alergias e/ou distúrbios pela ingestão de leite. A farinha obtida das frutas da palmeira da bocaiúva, farinha de bocaiuva (FB) é uma excelente fonte de calorias, fibras alimentares e vitamina A. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma bebida a base de soja contendo farinha de bacaiuva (prebióticos) e *Lactobacillus acidophilus* (probióticos) em simbiose. Para obter um efeito terapêutico ótimo, estima-se que o alimento deve conter um número maior de  $10^7$  UFC/mL de probióticos. Com base nesses aspectos um planejamento experimental  $3^2$  foi utilizado para investigar os aspectos sensoriais das formulações de bebidas contendo diferentes concentrações de EHS (8%; 10%; 12%), FB (1%; 3%; 5%) e *Lactobacillus acidophilus*. Aplicando escala hedônica de 9 pontos não houve diferença estatística entre os tratamentos pela análise dos dados sensoriais. Assim com o propósito de desenvolver uma bebida simbiótica, fonte de fibra alimentar e vitamina A, foram selecionadas as três formulações com a maior adição de FB. O índice de aceitação pela análise sensorial das formulações selecionadas F3 (8% EHS com 5% FB), F6 (10% EHS com 5% FB) e F9 (12% EHS com 5% FB) foi superior a 70% para a F3. A análise físico-química, microbiológica e contagem de células viáveis determinaram a vida de prateleira do produto. Durante os 28 dias de armazenamento a aproximadamente 7°C, as bebidas apresentaram células viáveis de acordo com a legislação ( $>10^7$  UFC/mL) e os valores de acidez aumentaram até aproximadamente 80 °D, mantendo o valor de pH próximo a 3,80. De acordo com a legislação brasileira todos os tratamentos selecionados foram caracterizados como fonte de fibras alimentares ( $> 3$  g/100g) e ricos em vitamina A para crianças de 1 a 9 anos ( $> 15\%$  VRD).

Palavras-chave: Bebida simbiótica. Farinha de bocaiuva. Fibras alimentares. Vitamina A. *Lactobacillus acidophilus*. Extrato hidrossolúvel de soja.

## ABSTRACT

The consumers, each time more worried about its health, are searching for more healthful feeding options that can provide benefits to its health and also satisfy its energy necessities. Nowadays, several new food products are launched in the market, and the main focus of the dairy industry is on the development of prebiotic and /or probiotic (synbiotic) products. Probiotics and prebiotics are functional and nutraceuticals foods, that contribute to the health and balance of the intestinal tract, reducing the bad absorption of the lactose, increasing the protection against intestinal diseases and so on. Probiotics are live microbial additions to the diet (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* or *Lactobacillus acidophilus*); prebiotics are foodstuffs that have a selective metabolism in the hindgut, whilst synbiotic foods are combinations of the two approaches. The soy hydrosoluble extract (EHS) contains natural oligosaccharides, such as raffinose and stachyose, considered as prebiotics when stimulating the growth of probiotics, been also an alternative base for a variety of beverages for people who present allergies and/or illnesses for the milk ingestion. The flour from bocaiuva's palm fruits, bocaiuva flour (FB), is an excellent source of calories, dietary fiber and vitamin A. The goal of this work was to develop a soy base beverage containing bocaiuva's flour (prebiotics) and *Lactobacillus acidophilus* (probiotic) in symbiosis. Therefore, in order to produce an excellent therapeutical effect, the content of a probiotic population higher than  $10^7$  CFU/mL is important, as it has been reported. Based on these aspects, a  $3^2$  factorial experimental design was used to investigate the sensorial aspects of the beverage formulation containing different concentrations of EHS (8%; 10%; 12%), FB (1%; 3%; 5%) and *Lactobacillus acidophilus*. Applying hedonic scale of 9 points the sensorial data analysis did not show statistic differences between the treatments. Thus with the intention of developing a synbiotic beverage, source of dietary fibers and vitamin A, the three formulations with the higher addition of FB had been selected. The organoleptical index acceptance of the selected F3 (8% EHS and 5% FB), F6 (10% EHS and 5% FB) and F9 (12% EHS and 5% FB) formulations, were superior to 70% for the F3 formulation. The physicochemical, microbiological analysis and cell growth evaluation determined the shelf-life of the products. During the 28 days storage period in approximately 7°C, the synbiotic beverages presented viable cells according to the Legislation ( $>10^7$  CFU/mL) and de acidity values increased until approximately 80 °D, keeping the values of pH near to 3.80. According to the Brazilian Legislation all the select treatments had been characterized as dietary fiber source ( $> 3$  g/100g) and rich in Vitamin A for children with 1 to 9 years old ( $> 15\%$  RDI).

Key-words: Synbiotic beverage. Bocaiúva flour. Dietary fiber. Vitamin A. *Lactobacillus acidophilus*. Soy hydrosoluble extract.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	VISTA GERAL DA COPA DA PALMEIRA <i>ACROCOMIA ACULEATA</i> .....	20
FIGURA 2 -	BASE DAS BAINHAS FOLIARES COBERTAS DE ESPINHOS ESCUROS E COMPRIDOS; VISÃO APROXIMADA DAS BAINHAS FOLIARES.....	20
FIGURA 3 -	CACHO COM FRUTOS DE BOCAIUVA PRODUZINDO VÁRIOS FRUTOS.....	21
FIGURA 4 -	FRUTOS DE BOCAIUVA.....	21
FIGURA 5 -	RESPECTIVAMENTE ESTRUTURA QUÍMICA DE COMPOSTOS PERTENCENTES AO GRUPO DAS XANTOFILAS E ESTRUTURA QUÍMICA DE COMPOSTOS PERTENCENTES AO GRUPO DOS CAROTENOS.....	23
FIGURA 6 -	FLUXOGRAMA DE OBTENÇÃO DA FARINHA DE BOCAIUVA.....	36
FIGURA 7 -	FLUXOGRAMA SIMPLIFICADO DE OBTENÇÃO DA FARINHA DE BOCAIUVA.....	37
FIGURA 8 -	FLUXOGRAMA DE DESENVOLVIMENTO DAS BEBIDAS FERMENTADAS DE SOJA COM ADIÇÃO DE FARINHA DE BOCAIUVA E <i>L. ACIDIPHILLUS</i> .....	40
FIGURA 9 -	ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES ATRIBUTO COR.....	49
FIGURA 10 -	ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES ATRIBUTO ODOR.....	50
FIGURA 11 -	ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES ATRIBUTO SABOR.....	51
FIGURA 12 -	ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES ATRIBUTO TEXTURA.....	51
FIGURA 13 -	ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES ATRIBUTO IMPRESSÃO GLOBAL.....	53
FIGURA 14 -	ÍNDICE DE ACEITAÇÃO SENSORIAL PARA AS FORMULAÇÕES F3, F6 E F9 .....	53
FIGURA 15 -	CONTAGEM DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> DURANTE TEMPO	

DE ARMAZENAMENTO. ....	63
------------------------	----



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	DELINEAMENTO FATORIAL (3 <sup>2</sup> ) UTILIZADO NO DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA ADICIONADAS DE FARINHA DE BOCAIUVA.....	38
TABELA 2 -	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DA FARINHA DE BOCAIUVA..	46
TABELA 3 -	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DAS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA ADICIONADA FARINHA DE BOCAIUVA E <i>L. acidophilus</i> .....	47
TABELA 4 -	RESULTADO DO TESTE DE PREFERÊNCIA (ESCALA HEDÔNICA DE 9 PONTOS), DAS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA ADICIONADA DE FARINHA DE BOCAIUVA E <i>L. acidophilus</i> .....	48
TABELA 5 -	COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FB EM RELAÇÃO AOS DADOS APRESENTADOS POR OUTROS AUTORES PARA POLPA DE BOCAIUVA, CALCULADA EM BASE SECA.....	54
TABELA 6 -	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS F3, F6 E F9.....	56
TABELA 7 -	ANÁLISES DE pH DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS DURANTE FERMENTAÇÃO.....	59
TABELA 8 -	ANÁLISES de pH DOS TRATAMENTOS (F3, F6 E F9) DURANTE O TEMPO DE ARMAZENAMENTO.....	58
TABELA 9 -	CONCENTRAÇÃO DE $\beta$ -CAROTENO ( $\mu\text{g/g}$ ) E VALORES DE VITAMINA A (ER/100G) NAS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA ADICIONADA DE FARINHA DE BOCAIUVA E <i>L. acidophilus</i> .....	60
TABELA 10 -	RECOMENDAÇÕES DIÁRIAS DE VITAMINA.....	61
TABELA 11 -	CONTAGEM MICROBIOLÓGICA DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> DURANTE O PERÍODO DE 0, 7, 14, 21 E 28 DIAS.....	62

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
Aw	Atividade de água
BFS	Bebida fermentada de soja
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
FB	Farinha de Bociúva
g	Grama
µg	Microgramas
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IDR	Ingestão Diária Recomendada
LA	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
PPGTA	Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos
mg	miligrama
kcal	Quilocalorias
UFC	Unidade Formadora de Colônia

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	16
1.1 OBJETIVO GERAL	17
1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	17
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	18
2.1 BOCAIUVA ( <i>Acrocomia aculeata</i> )	18
2.1.1 Farinha de Bcaiuva	22
2.2 CAROTENÓIDES	23
2.2.1 Vitamina A	25
2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS	26
2.3.1 Probióticos	27
2.3.2 Prebióticos	29
2.3.3 Simbióticos	30
2.4 FERMENTAÇÃO PROBIÓTICA E ÁCIDO LÁCTICO	31
2.5 PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE LEITES FERMENTADOS	31
2.6 SOJA E O EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA (EHS)	32
2.7 ANÁLISE SENSORIAL	34
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	35
3.1 MATERIAL	35
3.2 MÉTODOS	36
3.2.1 Processo de obtenção da farinha de bocaiuva	36
3.2.2 Delineamento Experimental	37
3.2.3 Etapas do processamento das formulações de bebida fermentada de soja com adição de farinha de bocaiuva e <i>L. acidophilus</i>	38
3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	40
3.4 ANÁLISE SENSORIAL	41
3.4.1 Primeiro teste sensorial – Escala Hedônica de 9 pontos	41
3.4.2 Segundo teste sensorial – Escala Hedônica de 7 pontos	42
3.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	42
3.5.1 Determinações físico-químicas na farinha de bocaiuva e nas formulações de bebida fermentada de soja adicionadas de farinha de bocaiuva e <i>L. acidophilus</i>	42

3.5.2 Determinações físico-químicas nas formulações de bebida fermentada de soja adicionadas de farinha de bociuiva e <i>L. acidophilus</i> .....	43
3.5.3 Determinação dos carotenóides.....	44
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	45
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	46
4.1 FARINHA DE BOCAIUVA.....	46
4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	47
4.3 ANÁLISE SENSORIAL.....	47
4.3.1 Primeira avaliação sensorial - Teste de Preferência - Escala Hedônica de 9 pontos.....	48
4.3.1.2 Índice de aceitação das formulações de BFS adicionada de FB e LA.....	48
4.3.2 Segunda avaliação sensorial - Teste de preferência – Escala Hedônica de 7 pontos.....	52
4.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA.....	54
4.4.1 Caracterização físico-química da farinha de bociuiva.....	54
4.4.2 Caracterização físico-química das bebidas fermentadas de soja adicionada de farinha de bociuiva e <i>L. acidophilus</i> .....	56
4.4.3 Valores de acidez (° D) e pH durante o processo de fermentação das formulações selecionadas sensorialmente.....	57
4.4.4 Evolução dos parâmetros de pH e acidez durante o tempo de armazenamento das formulações selecionadas sensorialmente.....	59
4.4.5 Carotenóides pró-vitâmicos A.....	60
4.5 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS.....	62
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	64
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	66
<b>ANEXOS</b> .....	78
<b>APÊNDICE</b> .....	78

## 1 INTRODUÇÃO

No grupo dos alimentos funcionais destacam-se os probióticos, produtos que contém micro-organismos vivos que quando ingeridos em quantidade suficiente, estabelecem o equilíbrio da microbiota intestinal (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Dentre eles destacam-se os *L. acidophilus*, que juntamente com *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* atuam em simbiose e além de benefícios em termos de nutrição e de saúde como redução de sintomas de alergias alimentares e regularização da função intestinal, podem também contribuir para melhorar o sabor do produto final, possuindo a vantagem de promover acidificação reduzida durante a armazenagem pós-processamento (GOMES; MALCATA, 1999).

A soja e seus derivados, sob processamento tecnológico adequado e devido as suas propriedades funcionais, possuem grande potencial de aplicação na indústria alimentícia. Em razão disso, vários estudos têm sido realizados para a elaboração de produtos diferenciados e que atendam às expectativas e necessidades do consumidor. Paralelamente a isto, a indústria alimentícia vem se adaptando a esta nova tendência para produtos funcionais em um mercado competitivo e exigente (BRANDÃO, 2002).

Das espécies de palmeiras nativas do Pantanal Mato-grossense, encontramos a *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart., conhecida por bocaiúva ou macaúba. Esta espécie é considerada importante sob o ponto de vista ecológico, pois serve de recurso alimentar para a fauna local e como alimento rico em minerais e vitaminas (LORENZI *et al.*, 1996; NEGRELLE *et al.*, 2003).

A farinha de bocaiúva, um típico produto regional, produzida artesanalmente por moradores das regiões onde a palmeira é encontrada. A polpa é desidratada, moída, embalada e colocada à venda. A farinha e a polpa possuem mercado potencial, principalmente, para produção de sucos e sorvetes, podendo ser mais uma opção de enriquecimento em novos alimentos devido a sua riqueza em  $\beta$ -carotenos, elementos precursores da vitamina A, e também como fonte de fibras.

Diante da procura por alimentos que tragam benefícios extras à saúde e dos potenciais efeitos funcionais da soja e dos probióticos, este estudo teve por finalidade elaborar uma bebida fermentada probiótica de soja com propriedades funcionais, avaliando a adição da farinha de bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) em diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja com adição de *Lactobacillus acidophilus*.

## 1.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Estudar a aplicação tecnológica da farinha de bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) no desenvolvimento de uma bebida fermentada de extrato hidrossolúvel de soja adicionada de *Lactobacillus acidophilus*.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obter uma farinha da polpa de bocaiúva (*Acrocomia aculeata*).

Determinar a composição centesimal, atividade de água, teor de vitamina A e avaliar microbiologicamente a farinha de bocaiúva;

Elaborar e definir formulações de bebida fermentada de soja variando o percentual de extrato hidrossolúvel de soja e farinha de bocaiúva.

Analisar microbiologicamente as formulações antes da análise sensorial quanto à presença de *E. coli*, *B. cereus* e *Salmonella sp* seguindo os padrões de identificação e qualidade para alimentos conforme legislação vigente.

Selecionar a formulação preferida através da Escala Hedônica de 9 Pontos e após análise estatística apontar as 3 formulações escolhidas.

Realizar análises de qualidade microbiológica, composição centesimal e vitamina A das 3 formulações preferidas e submeter novamente a painel sensorial através da escala hedônica para aceitação global de 7 pontos para indicação da formulação preferida.

Quantificar a presença de *L. acidophilus* nas 3 formulações levantadas pela primeira análise sensorial e avaliar a vida de prateleira destas, por 28 dias

sob armazenamento refrigerado controlado entre 4° a 7°C, quanto as alterações de pH e acidez.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 BOCAIÚVA (*Acrocomia aculeata*)

*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart., sendo primeiramente descrita por Jacquin no ano de 1763, é uma palmeira nativa de florestas tropicais encontrada em diversas regiões do território brasileiro, desde o sul do México até o sul do Brasil, Paraguai e Argentina (MORCOTE-RIOS; BERNAL, 2001). No Brasil é abundantemente encontrada nos estados do Ceará, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (BONDAR, 1964).

O Nome comum desta palmeira varia dependendo da região onde são encontradas como: Mbocayá (Argentina); totaí (Bolívia); corozo (Colômbia, Venezuela); tamaco (Colômbia); coyol (Costa Rica, Honduras, México). No Brasil, é conhecida por bocaiúva, coco-baboso, coco-de-espinho, macacauba, macaiba, macaibeira, macajuba, macaúba, macaúva, chiclete-de-baiano (TEIXEIRA, 1996; FRUITS, 2009).

Das espécies de palmeiras nativas encontradas no Pantanal Matogrossense, esta é considerada de grande importância sob do ponto de vista ecológico, servindo como recurso alimentar para a fauna local e muito utilizada na colonização de áreas devastadas (LORENZI *et al.*, 1996; NEGRELLE *et al.*, 2003; PINTO, 2004).

Devido às diversas formas de seu aproveitamento, é considerada ótima alternativa para geração de renda, mesmo que ainda se encontrem dificuldades com a ausência de informações botânicas, ecológicas e agrônômicas, o que impossibilita a implantação de sistemas de cultivo ou manejo sustentável desta espécie (NEGRELLE *et al.*, 2002).

O fruto é considerado a parte mais importante da planta, onde sua polpa pode ser consumida da forma *in natura* ou processada ou ainda utilizada para extração de óleo comestível e sua amêndoa fornece óleo claro com qualidades semelhantes ao da oliveira (LORENZI, 1992).

Proporcionalmente dos frutos obtém-se: entre 20 a 30 % de óleo, 5 % de farinha comestível, 35 % de tortas forrageiras e 35 % de combustível de alto poder calórico o que vem de encontro com a necessidade atual em se encontrar novas fontes alternativas de energia, como para a fabricação de biodiesel (MANZANO, 2009).

Quanto a seus aspectos botânicos, a *Acrocomia aculeata* possui um estipe atingindo uma altura de 10 a 15 m e 20 a 30 cm de diâmetro. A região dos nós é coberta de espinhos escuros, pontiagudos com cerca de 10 cm de comprimento. Suas folhas são verdes, ordenadas em diferentes planos dando um aspecto plumoso à copa, com comprimento variando de 4 a 5 m, apresentando aproximadamente 130 folíolos de cada lado e espinhos na região central (ARBOLES, 2008; MISSOURI, 2009; FRUITS, 2009). Nas Figuras 1 e 2 estão apresentadas as partes da palmeiras de bocaiúva.

Os frutos são esféricos ou pouco achatados, com diâmetro variando de 2,5 a 5,0 cm. O epicarpo é facilmente rompido quando maduro. O mesocarpo é fibroso, com sabor adocicado, rico em glicerídeos, de coloração amarelo ou esbranquiçado, comestível. O endocarpo é fortemente aderido à polpa (mesocarpo), com parede dura e internamente contém uma amêndoa oleaginosa, comestível. Cada fruto contém uma semente envolvida por casca (endocarpo) dura e escura com aproximadamente 3 mm de espessura (GRAY, 2009; FRUITS, 2009; HENDERSON *et al.*, 1995; BONDAR, 1964). Nas figuras 3 e 4 estão apresentados os frutos da bocaiúva.





FIGURA 1A E 1B - VISTA GERAL DA COPA DA PALMEIRA *ACROCOMIA ACULEATA*. FONTE: NUCCI (2007).



FIGURA 2A E 2B - BASE DAS BAINHAS FOLIARES COBERTAS DE ESPINHOS ESCUROS E COMPRIDOS; VISÃO APROXIMADA DAS BAINHAS FOLIARES. FONTE: NUCCI (2007).

Sua frutificação ocorre durante todo o ano e os frutos amadurecem, principalmente, entre setembro e janeiro (HENDERSON *et al.*, 1995; SCARIOT, 1995).



FIGURA 3A E 3B - CACHO COM FRUTOS DE BOCAIÚVA PRODUZINDO VÁRIOS FRUTOS. FONTE: NUCCI (2007).



FIGURA 4 - FRUTOS DE BOCAIÚVA. FONTE: AMARAL (2007).

Têm-se registrado a utilização de recursos variados desta palmeira no cotidiano do pantaneiro, como alimento, fonte de fibra, vitamina A (PINTO, 2004).



### 2.1.1 Farinha de bocaiúva

A Farinha de Bocaiúva, típico produto regional, é produzida artesanalmente nas regiões onde prevalece o cultivo sustentável desta espécie, trabalho este desenvolvido, principalmente, por mulheres da zona rural. O processo começa com a coleta dos frutos que estão maduros no período entre setembro e dezembro. A polpa é retirada manualmente e levada ao sol por 2 a 3 dias até completa secagem. A polpa desidratada é, então, moída, embalada e colocada à venda. A farinha e a polpa possuem mercado potencial, principalmente, para produção de sucos, sorvetes, bolos e pães e podem ser uma alternativa de renda para a população local.

Seu estudo ainda é recente, o que dificulta encontrar publicações a respeito de suas características físico-químicas, tanto para polpa in natura quanto para farinha. No entanto, o campo está aberto à pesquisa e vários trabalhos vêm sendo realizados.

Hiane e Penteado (1989a), estudaram os valores de vitamina A dos frutos e da polpa processada de bocaiúva da espécie *Acrocomia mokayáyba* Barb. Rodr. Neste estudo o principal carotenóide encontrado foi o  $\beta$ -caroteno representando 89,3% do total de pigmentos (66,55  $\mu$ /g) contribuindo significativamente para o valor de vitamina A. Também verificou-se uma perda significativa do valor de vitamina da polpa processada em relação à in natura, chegando a 63,1%.

Em relação ao estudo de minerais, a polpa de bocaiúva pode ser classificada como rica em cobre, como fonte de zinco e potássio para crianças, como fonte de cobre e potássio para adultos e também fonte de fibras, ressaltando a importância em ampliar os estudos sobre esta matéria prima (RAMOS *et al.*, 2008).

Silva *et al.* (2008) estudaram as características físico-químicas de frutos como bocaiúva (*Acrocomia aculeata* Mart), caju-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), araticum (*Annoma crassiflora* Mart), murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich), gabioba (*Compomanesia cambessedeanana* Berg), cagaita (*Eugenia dysenterica* Dc), mangaba (*Hancornia speciosa* Gómez), puçá (*Mouriri pusa* Gard), araçá (*Psidium araca* Raddi), chichá (*Sterculia striata* A. St. Hil. & Naud) e pitomba (*Talisia esculenta* Radlk). Dentre elas destacam-se o

chichá e a bocaiúva como fonte de lipídeos com 21,15 g/100g e 14,93 g/100g, proteínas com 19,58 g/100g e 2,76 g/100g, fibras com 10,28 g/100g e 11,14 g/100g respectivamente.

## 2.2 CAROTENÓIDES

Os carotenóides constituem um dos grupos mais importantes de pigmentos encontrados na natureza. Sua principal função está relacionada com a atividade pro-vitâmica A. Os principais carotenóides encontrados são o beta ( $\beta$ ) e alfa ( $\alpha$ ) caroteno, licopeno, luteína e beta-criptoxantina, antioxidantes naturais que correspondem a 90% dos carotenóides presentes no corpo humano (SANDERS, 1994; OLIVER; PALOU, 2000).

Por definição, os carotenóides são compostos lipossolúveis, poli-isoprenóides, composto por um tetraterpeno (40 carbonos), formado a partir de 8 unidades isoprenóides de 5 unidades de carbono. No entanto, sua estrutura pode sofrer modificações através da ação de hidrogenação, ciclização, desidrogenação, entre outras reações que podem resultar em uma enorme diversidade de estruturas (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Os carotenóides podem ser divididos em dois grupos, as xantofilas e os carotenos, considerando-se a presença ou não do oxigênio em sua estrutura, respectivamente (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Na Figura 5A e 5B, estão apresentadas as estruturas de compostos pertencentes a estes grupos.

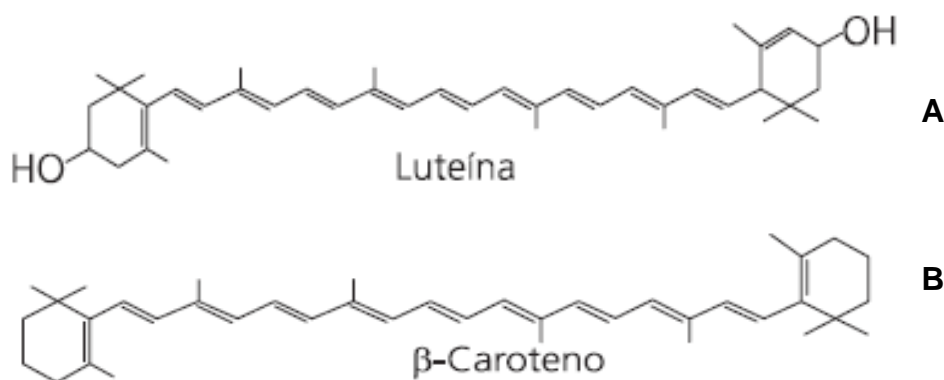


FIGURA 5. A -ESTRUTURA QUÍMICA DE COMPOSTOS PERTENCENTES AO GRUPO DAS XANTOFILAS  
B -ESTRUTURA QUÍMICA DE COMPOSTOS PERTENCENTES AO GRUPO DOS CAROTENOS.

É um dos pró-vitamínicos mais estáveis, podendo sofrer alterações devido à degradação durante cozimentos prolongados e também durante o seu armazenamento pela ação de enzimas, da luz e do oxigênio. Assim, com a utilização de altas temperaturas, como na desidratação de vegetais e frutas, pode reduzir a atividade biológica dos carotenóides, por outro lado, sua estabilidade é mantida nos alimentos congelados (ROCHE, 2008).

A este grupo ainda fazem parte mais de setecentos compostos, já descritos e caracterizados (HORNEROMÉNDEZ; BRITTON, 2002), dentre os quais apenas cinquenta possuem atividade de vitamina A, sendo o  $\beta$ -caroteno aquele que possui maior atividade biológica (AMBRÓSIO *et al.*, 2006).

Estes pigmentos contribuem com 68% da ingestão diária de vitamina A e em países em desenvolvimento este índice pode chegar a 82%, o que tem resultado na prevenção e proteção contra uma série de doenças como o câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular, catarata e infecções pelo vírus HIV (OLIVER; PALOU, 2000). A biodisponibilidade dos carotenóides é muito maior em vitamina A pré-formada do que os pró-vitaminicos A (YONEKURA; NAGAO, 2007).

A ingestão de carotenóides, incluindo suplementos, é concebida como fator protetor contra uma larga variedade de cânceres humanos, como do cólon e reto, da próstata, do esôfago, do estômago e da cavidade oral (OLSON, 1993).

O  $\beta$ -caroteno é encontrado principalmente em frutas de coloração amarelo-laranja (uma vez que é responsável por esta) como tucumã (*Astrocaryum aculeatum*); pupunha (*Bactris gasipaes*); buriti (*Mauritia flexuosa*); uxi (*Endopleura uchi*); mari (*Poraqueiba paraensis*) e bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) (ARRUDA, BENTES e SERRUYA, 1982; ARRUDA *et al.*, 1983; HIANE, 1989a).

Mesmo que hoje diversos estudos sobre a composição de carotenóides estejam sendo realizados, ainda há muito para se investigar dentro do grupo dos carotenóides (BERNHARDT; SCHLICH, 2006).

### 2.2.1 Vitamina A

A vitamina A é essencial para a visão, crescimento ósseo e integração do sistema imunológico, onde sua ausência em uma dieta saudável pode resultar em complicações como anemia (LAYRISSE *et al.*, 2000). Segundo esses autores, uma das funções mais importantes e conhecidas da vitamina A é sua participação no processo visual, sendo essencial para a visão noturna, e manutenção da integridade do tecido ocular. Outras funções são a diferenciação das células epiteliais, secreção de muco, crescimento, reprodução e função imune.

O organismo humano e de outros animais não é capazes de sintetizar a vitamina A, em forma de retinol, assim as necessidades diárias são atendidas pela ingestão de alimentos que contenham estes nutrientes. A biodisponibilidade da vitamina A é afetada principalmente pelo estado nutricional de cada pessoa e pelas condições de integridade da mucosa intestinal do indivíduo. Outros fatores nutricionais importantes que contribuem com a biodisponibilidade desta vitamina são as proteínas e as gorduras (RAMALHO *et al.*, 2002).

As fontes de vitamina A já pré-formadas existentes na natureza são encontradas no óleo extraído do fígado de peixes. Uma fonte muito conhecida são os peixes de água doce que contém a vitamina na forma que pode ser reduzida a retinol, proporcionando até 40% da atividade biológica da vitamina A (YUYAMA *et al.*, 2005).

Os precursores desta vitamina são amplamente encontrados nas frutas amarelo a alaranjadas como a manga, mamão, goiaba vermelha, abóbora e vegetais de folhas verdes escuras como a couve, brócolis, folhas de beterraba e cenoura, chicória entre outras fontes. Dentre estas, a bocaiúva é uma fonte potencial de várias frações pro-vitamínica A, além do  $\beta$ -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; SOUZA; VILLAS BOAS, 2002).

Frutas como ameixa japonesa (*Prunus domestica* L), acerola (*Malpighia glabra*), caqui (*Diospyros Kaki*), carambola (*Averhoa carambola*), maracujá doce (*Passiflora edulis*), mamão formosa (*Carica papaya*), morango (*Fragaria vesca* L), nectarina (*Prunus persica*), nêspera (*Eriobotrya japonica* Lindl.) e pêssago (*Prunus persica*) foram estudadas quanto ao conteúdo pró-vitâmico

A, sendo o  $\beta$ -caroteno o composto majoritário quantificado em todas as frutas estudadas, com exceção da ameixa (SOUZA *et al.*, 2004).

Em estudo realizado com frutas do cerrado brasileiro, Hiane *et al.* (2003), avaliaram as concentrações de carotenóides pró-vitâmnicos no fruto e na farinha do bacuri (*Scheelea phalerata* mart.) encontrando respectivamente 17,28  $\mu\text{g/g}$  e 23,51  $\mu\text{g/g}$  de  $\beta$ -caroteno como carotenóide majoritário, confirmando a riqueza da fruta neste componente.

Hiane *et al.* (1989a), ao estudarem a bocaiúva da variedade *Acrocomia mokayaya* Barb. Rodr encontraram em sua composição  $\beta$ -caroteno como carotenóide majoritário com 59,41  $\mu\text{g/g}$  além de  $\gamma$ -caroteno (0,86  $\mu\text{g/g}$ ),  $\beta$ -criptoxantina (1,86  $\mu\text{g/g}$ ), cis-licopeno (43  $\mu\text{g/g}$ ) e cis-flavoxantina (0,17  $\mu\text{g/g}$ ).

## 2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Alimento funcional é o alimento que além de exercer suas funções nutricionais como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, possui em sua composição, uma ou mais substâncias capazes de agir beneficemente no organismo do hospedeiro, auxiliando nos processos metabólicos, melhorando as condições de saúde, promovendo redução dos riscos de doenças e manutenção da saúde (WALZEM, 2004; ANJO, 2004).

A resolução nº 2 de 07 de janeiro de 2008, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), define por alimento funcional: "todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica".

Os principais ingredientes responsáveis pela funcionalidade desses alimentos são liderados as fibras dietéticas, óleos de peixe, esteróis de plantas, minerais, vitaminas, prebióticos e probióticos (FERREIRA, 2001).

Os alimentos e ingredientes funcionais são classificados variando quanto à sua fonte de origem sendo vegetal ou animal, e quanto aos benefícios causados pelos princípios ativos adicionados aos alimentos para quem os consomem. Estes tipos de alimentos podem atuar em seis áreas do nosso

organismo: no sistema gastrointestinal, sistema cardiovascular, metabolismo de substratos, no crescimento, no desenvolvimento, na diferenciação celular, no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (SOUZA, *et al.*, 2003).

O Japão foi o pioneiro no conceito de alimentos funcionais e na produção e comercialização destes alimentos. Conhecidos como FOSHU, "Foods for Specified Health Use", os funcionais japoneses sustentam um selo de aprovação do Ministério da Saúde e Bem Estar do Japão.

Com a grande divulgação dos benefícios destes alimentos a população cada vez mais preocupada com a saúde vem buscando uma alimentação saudável, levando as indústrias a investirem cada vez mais neste segmento. Estão disponíveis no mercado diversos tipos de alimentos com apelo funcional, como em laticínios, bebidas, cereais e carnes, mas infelizmente seu acesso ainda é restrito a uma parcela da população (MATTILASANDHOLM *et al.*, 2002; NEVES, 2005).

O setor da indústria de alimentos que mais oferece opções destes alimentos é o de laticínios, iogurtes, sobremesas e bebidas fermentadas a base de extrato hidrossolúvel de soja, onde o estudo a respeito da adição de micro-organismos probióticos é crescente (SHAH; RAVULA, 2000).

Dentro do grupo de alimentos funcionais temos os probióticos, os prebióticos e os simbióticos sendo:

### 2.3.1 Probióticos

Segundo Gomes e Malcata (1999) são micro-organismos vivos em quantidades suficientes para produzir ao hospedeiro, benefícios à sua saúde. Definem-se também como culturas puras ou mistas de micro-organismos vivos, sendo bactérias lácticas ou bactérias e leveduras utilizadas em produtos fermentados e quando ingeridas possuem efeitos benéficos promovendo um balanço na microbiota intestinal.

Para um produto probiótico fermentado, é necessária uma contagem mínima de células viáveis de  $10^7$  UFC/ mL e se faz necessário que estes



produtos sejam consumidos regularmente para manter o efeito desses micro-organismos sobre a microbiota intestinal (GOMES e MALCATA, 1999).

A viabilidade de um probiótico depende muito de fatores como pH, temperatura de estocagem, nível de oxigênio e presença de micro-organismos competidores e inibidores (MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002).

Os probióticos mais utilizados no desenvolvimento de alimentos são do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. murinus*, *L. intestinalis*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. ruminis*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius*. Do gênero das *Bifidobacterium* são *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis* e *B. animalis* (GOMES; MALCATA, 1999).

Os *L. acidophilus* são bactérias gram-positivas, catalase negativas, anaeróbias a microaerófilas, homofermentativas resistentes a pH estomacal. São fracos formadores de ácidos, muito utilizados em iogurtes suaves. Desenvolvem-se a temperatura entre 20 a 48°C, sendo a temperatura ótima de crescimento 37°C. Os lactobacilos contribuem com o sabor e aroma em alimentos fermentados, produzindo vários compostos voláteis, como o diacetil e seus derivados (BARBOSA, 2007).

Vários estudos utilizam o *L. acidophilus* tanto como cultura pura, ou combinadas com outras bactérias lácticas como *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* no desenvolvimento de bebidas fermentadas tanto de base láctea como vegetal a partir do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) comprovando o efeito benéfico desta simbiose.

As bactérias lácticas *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* crescem associadas resultando em menor tempo de coagulação, maior produção de ácido láctico e um maior desenvolvimento de sabor e aroma no iogurte. Micro-organismos probióticos produzem uma fermentação muito lenta, e quando associadas às bactérias lácticas além de fornecer características probióticas ao alimento, melhoram os aspectos sensoriais como a produção de polissacarídeos e de enzimas proteolíticas, modificando a textura do alimento (LEROY DE VUYST, 2004).

### 2.3.2 Prebióticos

Prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis pela microbiota intestinal agindo benéficamente em quem os consomem. Segundo Fooks, Fuller e Gibson (1999), para ser considerado prebiótico é necessário que o ingrediente atenda as seguintes características: não sofrer hidrólise e nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal; ser capaz de promover uma melhora intestinal e consequentemente induzir efeitos no lúmen que beneficiem o hospedeiro.

Como exemplo de substâncias prebióticas pode-se citar alguns oligossacarídeos como a lactulose, lactitol, lactosacarose, rafinose, frutooligosacarídeos e polissacarídeos como a inulina e o amido resistente (CONWAY, 2001).

As fibras são os alimentos prebióticos mais utilizados na indústria de alimentos, sendo divididas em dois grupos:

- Fibras solúveis conferem aos alimentos uma textura mais firme. A ingestão de alimentos ricos em fibras insolúveis auxilia no processo natural de eliminação, devido a regularização intestinal, auxiliando no tratamento e prevenção da constipação e outros problemas intestinais (VIRTUARTE, 2007; FARIAS, 2007).
- Fibras insolúveis são utilizadas em especial para benefícios nutricionais, mas algumas podem, também, ser usadas pelas suas propriedades tecnológicas (THEBAUDIN *et al.*, 1997).

As fibras são encontradas somente em plantas, como grãos, vegetais e frutas. Os cereais possuem geralmente fibras insolúveis em água; as frutas (banana, maçã), nozes, as leguminosas (feijões, ervilhas), além de couve-flor e cenoura entre outros, contêm uma grande proporção de fibras solúveis (VIRTUARTE, 2007; FARIAS, 2007).

No Brasil, segundo a portaria nº27 de 13 de janeiro de 1998 da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, o regulamento técnico referente à informação nutricional de alimentos estabelece que um alimento pode ser considerado fonte de fibras quando apresentar no produto pronto 3g/100g (base integral) para alimentos sólidos e 1,5g/100ml (base integral) para

alimentos líquidos, já com o dobro deste conteúdo é considerado um alimento com elevado teor de fibras.

O consumo de alimentos ricos em fibras está ligado a diversos benefícios como: estimulação de sistema imune, modulação da síntese de colesterol e metabolismo hormonal, redução de pressão sangüínea, e desta forma, está associado à diminuição de doenças crônicas não transmissíveis, como doença cardíaca e diabetes tipo 2 (CHO, 2001).

### 2.3.3 Simbióticos

Os produtos que contêm uma bactéria probiótica (lactobacilo e/ou bifidobactéria) e prebióticos são chamados simbióticos (ROBERFROID *et al.*, 1999). No desenvolvimento de simbióticos é necessária a seleção de linhagens de micro-organismos com melhor capacidade de utilização de um determinado prebiótico, para se obter um efeito sinérgico na implantação e proliferação das bactérias desejáveis (FERREIRA *et al.*, 2000). A interação entre os dois grupos pode ser favorecida resultando em uma vantagem competitiva para o probiótico se este for consumido juntamente com o prebiótico (PUUPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002)

Em geral, as propriedades dos prebióticos podem influenciar o crescimento e sobrevivência dos probióticos, afetando o crescimento tanto de probióticos como de culturas *starter* em conjunto. Isto leva a considerar as interações entre probióticos e *starters*. A interação *in vivo* pode ser favorecida para uma adaptação do probiótico ao prebiótico, condicionando seu metabolismo simultaneamente com um dado substrato, resultando numa vantagem competitiva para o probiótico (SAARELA *et al.*, 2000).

## 2.4 FERMENTAÇÃO PROBIÓTICA E ÁCIDO LÁCTICO

Bactérias ácido lácticas são aquelas que fermentam carboidratos (hexoses) resultando na produção de um único composto, o ácido láctico. A utilização destes micro-organismos com propriedades funcionais como as

bactérias ácido lácticas contribuem significativamente, aumentando a segurança alimentar, isto devido a produção de ácidos orgânicos o que resulta no decréscimo do pH do meio, inibindo de modo o crescimento de micro-organismos patogênicos (TAMINE, 1991).

O produto desta fermentação, o ácido láctico, é muito utilizado como acidulante, saborizante e conservante de alimentos e também de grande uso na indústria farmacêutica, têxtil e química (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

Neste grupo encontram-se diversos gêneros de bactérias estando entre elas os *Lactococcus*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*, que são bactérias fermentativas e anaeróbicas.

A fermentação probiótica oferece muitas vantagens intrínsecas aos produtos, como a produção de compostos que atuam diretamente na textura do alimento, alterando de forma desejável suas características, também, resultando na produção de aromas desejáveis como o acetaldeído encontrado em produtos fermentados. Há também maior disposição deste alimento à reação de proteólises, além da diminuição dos teores de compostos tóxicos, como a remoção de aminas biogênicas que possuem propriedades cancerígenas, de lactose e de ácido fítico (LEROY; DE VUYST, 2004; NEVES, 2005).

## 2.5 PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE LEITES FERMENTADOS

De acordo com o Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Leite Fermentado – Resolução GMC 47/97 (BRASIL, 2000) – entende-se por leites fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microorganismos específicos. Estes devem ser viáveis ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade.

Segundo o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, Resolução RDC nº 2, de janeiro de 2002 da ANVISA, um produto dito probiótico deve conter, no mínimo, uma quantidade de  $10^7$  UFC/ml ou grama de produto.

Para produtos fermentados por probióticos utilizando como base o EHS, observa-se a falta de um padrão específico, sendo assim, para o desenvolvimento de bebidas fermentadas com base vegetal, seguem-se os padrões para leites fermentados. A utilização de EHS vem trazer ao consumidor mais uma opção para alimentação rica em nutrientes, sendo esta uma forma de introduzir no mercado produtos a base de soja.

## 2.6 SOJA E O EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA (EHS)

Nos últimos anos tem-se observado um elevado crescimento em relação à soja, destacando-se como alimento que traz muitos benefícios à saúde. Suas principais características químicas e nutricionais a qualificam como alimento funcional, além da alta qualidade de sua proteína, diversos estudos demonstram varias formas que esta pode ser utilizada na alimentação: na forma preventiva e terapêutica no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas de menopausa (RODRIGUES, 2003; WANG, 2006).

A soja, de nome científico *Glicine Max L. Merril*, pertence a família das leguminosas primeiramente sendo cultivada como planta domesticada no Nordeste da China por volta do século XI A.C. e posteriormente, propagando-se para o restante do mundo. (MORAIS; SILVA, 1996).

A soja é considerada alimento de elevado valor nutritivo, muito importante para uma alimentação balanceada, constituindo uma excelente fonte de energia e proteína, além de fonte de vitaminas e minerais (DE ANGELIS, 1999). Quando consumida ainda verde, fornece alto conteúdo de niacina e de ácido ascórbico, quando madura, torna-se ótima fonte das vitaminas E e K e boa fonte de tiamina, riboflavina e ácido fólico (MORAIS; SILVA, 1996).

O sabor adstringente característico da soja resulta principalmente da ação da enzima lipoxigenase o que limita o consumo dessa leguminosa. A reação só ocorre quando os grãos sofrem a quebra e posteriormente absorvem água. Mas esta ação pode ser evitada através do tratamento térmico de aproximadamente 100°C por 5 a 10 minutos (MORAIS; SILVA, 1996; BEHRENS; DA SILVA, 2004).

Os compostos responsáveis pelo sabor desagradável presente no grão de soja são formados durante o processo de fabricação de seu extrato. Entre eles foram estudados aproximadamente 80 compostos voláteis e muitos já foram identificados. Entre eles estão: aldeídos, acetais, ésteres, compostos sulfurados, hidrocarbonetos, cetonas, álcool 1-pentilfurano, ácido hexanóico, gama-nanolactona e o hexanal, este último, o componente volátil que se forma em maior quantidade. A maioria desses compostos tem odor desagradável, especialmente a etilvinilcetona, responsável pelo sabor típico de soja crua (MORAIS, *et al.* 2006).

O EHS também conhecido como “leite de soja”, apresenta-se na forma líquida ou em pó de alto valor nutritivo, custo relativamente baixo, fácil obtenção e mesmo sendo um produto muito conhecido, ainda é pouco consumido no Brasil. Os principais fatores limitantes ao seu consumo envolvem o sabor característico e a adstringência, já que em termos de aparência e valor nutritivo compara-se ao leite (MORAIS; SILVA, 1996).

A soja contém um elevado teor de proteína sendo ela considerada uma matéria prima importante para obtenção de vários derivados ricos em proteínas, como a farinha de soja, os isolados e concentrados protéicos, a proteína vegetal texturizada e os extratos hidrossolúveis, líquido e em pó (BEHRENS, 2001).

Segundo Liu (1997), a proteína de soja é uma substância anfótera e coloidal, onde a coagulação e estabilidade desta são resultado de reações e ligações com cátions em sistemas aquosos que são afetados pelo pH. O aquecimento do EHS auxilia na aglomeração das proteínas de soja, particularmente aumenta imediatamente após o aquecimento, chegando a um pico máximo e depois diminui. Durante a fermentação o coágulo de EHS é formado através da desnaturação protéica causada pelo aquecimento seguido da coagulação hidrofóbica. Antes do seu aquecimento, as regiões hidrofóbicas

do EHS estão localizadas dentro da molécula protéica, e após o aquecimento devido à desnaturação, estas regiões ficam expostas nas moléculas quando então os prótons ( $H^+$ ) ou os íons ( $Ca^{++}$ ) atuam neutralizando estas cargas, o que aproxima as moléculas formando-se o gel.

## 2.7 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial possibilita avaliar a qualidade de um alimento em todos os seus aspectos, analisando seus atributos sensoriais de qualidade como sabor, textura e aparência. É muito utilizada em pesquisas realizadas por indústrias para determinarem a preferência e aceitação do mercado para determinado produto que satisfaça tais características de qualidade, com uma máxima economia na produção (DUTCOSKY, 2007).

Segundo Dutcosky (2007), os testes afetivos mais utilizados para avaliar a aceitação dos alimentos são: a escala hedônica de nove e sete pontos e a escala-do-ideal. Testes sensoriais de diferença são muito utilizados para comparar varias amostras em relação a um determinado atributo, como sabor e aroma, verificando se estas amostras diferem entre si. Estes atributos podem variar do desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo, de acordo com a escala utilizada.

Para a avaliação de produtos fermentados, a escala hedônica de nove pontos é a mais utilizada (DUTCOSKY, 2007), ela é convertida em escores numéricos analisados estatisticamente para determinar a diferença no grau de preferência entre amostras (IFT, 1981).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

No preparo das formulações de BFS adicionada de FB e LA, foram utilizados: extrato hidrossolúvel de soja (EHS) da Olvebra<sup>®</sup> (composição química no Apêndice 1), açúcar refinado (UNIÃO<sup>®</sup>), aroma artificial de frutas vermelhas, mascarante para produtos à base de soja, corante alimentício artificial vermelho de carmim (Duas Rodas Industrial<sup>®</sup>), fermento lácteo *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, cultura probiótica *L. acidophilus* (Sacco do Brasil<sup>®</sup>) e frutos de bocaiúva disponibilizados pela Fazenda Campanário do município de Bodoquema, Mato Grosso do Sul.

#### 3.2 MÉTODOS

##### 3.2.1 Processo de obtenção da FB

O processo artesanal de obtenção da FB foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Frutos maduros de bocaiúva foram selecionados, lavados e mantidos sob congelamento em freezer (-20°C) até sua utilização. Seguindo a etapa de beneficiamento manual, os frutos foram submetidos ao processo de descascamento, retirada da polpa e distribuição em formas de alumínio para secagem em estufa até sua completa desidratação. Após a etapa de secagem, a polpa foi triturada utilizando-se um liquidificador industrial e posteriormente submetida à padronização em sistema vibratório de peneiras nas aberturas de 0,15 a 1,68 mm. A farinha padronizada foi acondicionada em embalagem plástica e armazenada em “freezer” (-20°C) para posteriores análises microbiológicas, físico-químicas, para assim ser empregada nas formulações de BFS. Nas Figuras 5 e 6 estão apresentados os fluxogramas de obtenção da FB.



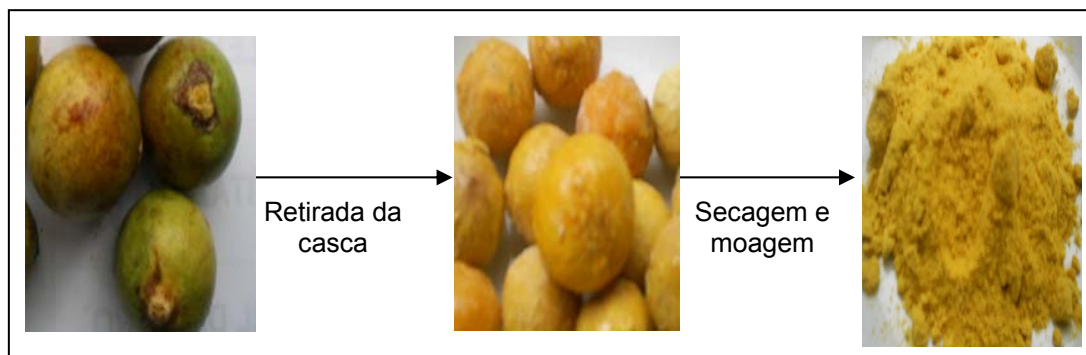


FIGURA 5 – FLUXOGRAMA SIMPLIFICADO DA OBTENÇÃO DA FARINHA DE BOCAIUVA

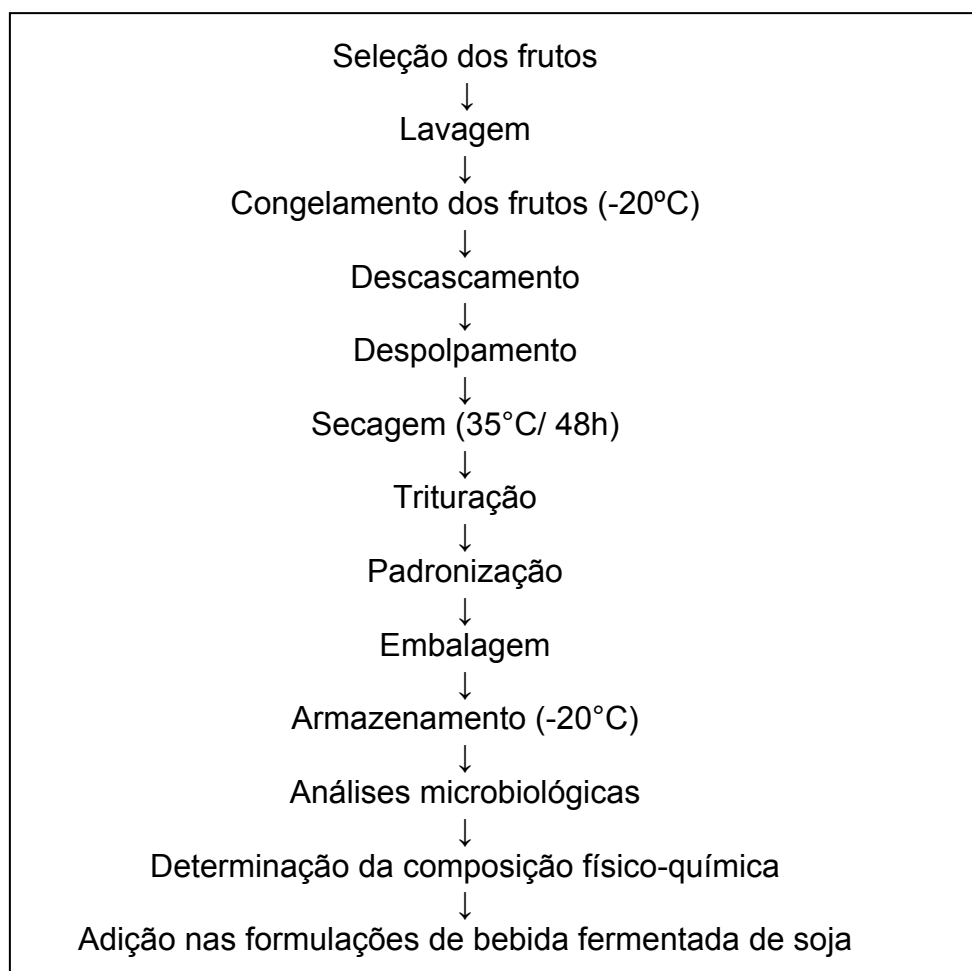


FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DE OBTENÇÃO DA FARINHA DE BOCAIUVA

### 3.2.2 Delineamento experimental

No estudo das formulações de BFS utilizou-se o delineamento fatorial completo ( $3^2$ ), sendo nove experimentos fatoriais com duas replicatas do ponto central (C), totalizando 11 experimentos. As variáveis independentes FB e EHS foram estudadas em três diferentes níveis e codificadas em (-1, 0, +1), onde as concentrações de FB variaram de 1 a 5% conforme testes preliminarmente realizados, e EHS de 8-12% seguindo como base as recomendações fornecidas pelo fabricante. Todos os dados estão apresentados conforme a tabela 1.

TABELA 1 - DELINEAMENTO FATORIAL ( $3^2$ ) UTILIZADO NO DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA (BFS) ADICIONADAS DE FARINHA DE BOCAIUVA (FB)

Variáveis Codificadas			Concentração (%)	
Experimento	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
1	-1	-1	8	1
2	-1	0	8	3
3	-1	1	8	5
4	0	-1	10	1
5 (C)	0	0	10	3
6	0	1	10	5
7	1	-1	12	1
8	1	0	12	3
9	1	1	12	5
10(C)	0	0	10	3
11(C)	0	0	10	3

NOTA: EHS: Extrato hidrossolúvel de soja; X<sub>1</sub> : Concentração de EHS; X<sub>2</sub> : Concentração de FB; (C): Ponto central

### 3.2.3 Etapas do processamento das formulações de bebida fermentada de soja com adição de farinha de bociuiva e *L. acidophilus*

O desenvolvimento das formulações de BFS adicionada de FB foi realizado no laboratório de Laticínios, do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Medianeira - PR

Para elaboração das onze formulações de BFS, foram realizadas as seguintes etapas:

Todos os ingredientes foram pesados separadamente e reservados.

Cada formulação base contendo EHS e água destilada foi esterilizada separadamente em autoclave a 121°C por 15 minutos e posteriormente resfriadas em banho de gelo a 42°C para adição do fermento lácteo e cultura probiótica.

A etapa de fermentação foi realizada em fermenteira industrial Brasholanda® modelo 2x25, série G, com aquecimento em banho-maria a temperatura controlada de 45°C por aproximadamente 6 horas.

Efetua-se um resfriamento até aproximadamente 10°C, para interromper a atividade fermentativa das formulações, evitando formação de sabor ácido.

Seguiu-se com etapa de quebra do coágulo e adição dos demais ingredientes na ordem: açúcar refinado, mascarante para produtos a base de soja, aroma artificial de frutas vermelhas, corante artificial vermelho de carmim e a adição da FB. Todos estes ingredientes com exceção da FB foram padronizados para todas as formulações seguindo as recomendações dadas pelo fabricante.

Após a etapa de homogeneização, as bebidas foram embaladas em garrafas plásticas e armazenadas em câmara fria a temperatura de  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  para posteriores análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais.

O fluxograma da Figura 8 representa de forma simplificada os procedimentos realizados para a elaboração das formulações de BFS adicionada de FB.

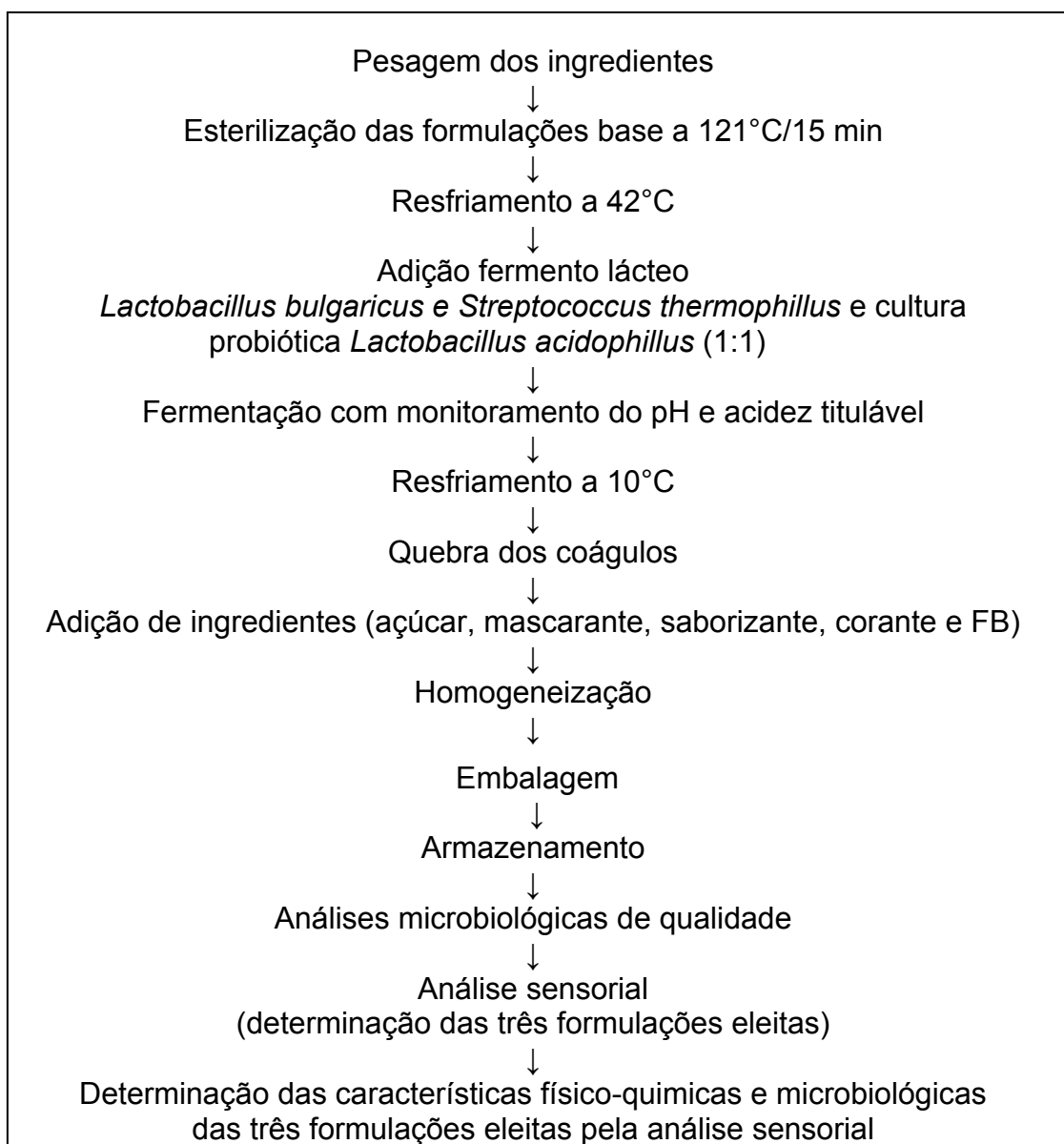


FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DE DESENVOLVIMENTO DAS BEBIDAS FERMENTADAS DE SOJA COM ADIÇÃO DE FARINHA DE BOCAIUVA E *L. ACIDIPHILLUS*

### 3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas para a FB e para as formulações de BFS adicionadas de FB e LA, foram realizadas no Laboratório de Análises Microbiológicas do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná.

Todas as análises microbiológicas foram realizadas segundo as recomendações da Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL,

2001), que estabelece os padrões microbiológicos para todos os tipos de alimentos.

Para a FB não foram encontrados padrões determinados, utilizou-se assim, os padrões estabelecidos para produtos farináceos. Já para as análises realizadas nas formulações de BFS adicionada de FB, seguiram-se os padrões determinados para produtos a base de soja.

As análises realizadas em triplicata foram: contagem de *E. coli*, de acordo com o método 991.14 (Petrifilm™), conforme AOAC (1997)., detecção de *Salmonella sp.*, utilizando-se o método de enriquecimento seletivo conforme AOAC (2000)., contagem de *B. cereus*, de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (1997), método número 980.31.

A contagem de *Lactobacillus acidophilus* das três formulações de BFS selecionadas pela análise sensorial foi realizada no 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dias de estocagem. Para a contagem dos micro-organismos probióticos, utilizou-se da técnica de plaqueamento em profundidade com uso do meio De Man, Rogosa Sharp (MRS), seguido de enriquecimento com adição de solução de maltose e crescimento em anaerobiose a 37°C por 72 horas, segundo preconizado por IDF (1999).

### 3.4 ANÁLISE SENSORIAL

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial, do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Tecnológica do Paraná e no Laboratório de Análise Sensorial do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná.

Para as análises sensoriais das formulações de BFS adicionada de FB foram aplicados dois testes de aceitação: Escala Hedônica de 9 pontos e Escala Hedônica de 7 pontos.

#### 3.4.1 Primeiro teste sensorial – Escala Hedônica de 9 pontos

O primeiro teste utilizado avaliou a preferência nos atributos de cor, sabor, aroma, aparência, aceitação global através de uma escala hedônica de

nove pontos estruturados, variando de 1 = “Desgostei muitíssimo” a 9 = “Gostei muitíssimo” (ABNT, 1999), conforme ficha em anexo.

As amostras das formulações do delineamento experimental foram divididas em três grupos aleatórios e apresentadas aos provadores em sessões: Grupo 1 (4 amostras), Grupo 2 (4 amostras) e Grupo 3 (3 amostras). Todos os grupos continham uma formulação do ponto central (10% de EHS e 3% de FB).

Neste teste participaram 80 provadores não-treinados (funcionários e estudantes da UTFPR, Medianeira-PR) que declararam ser consumidores de produtos a base soja, no mínimo uma vez por semana. Antes da avaliação todos os provadores foram informados sobre a metodologia do teste aplicado, e seguiram para cabines individuais para realização da análise sensorial.

Amostras de BFS adicionada de FB E LA foram servidas resfriadas a 7°C de forma aleatória em copos brancos descartáveis de 50ml, codificados com algarismos de três dígitos. Água e biscoito tipo água e sal ficaram à disposição dos provadores para enxágüe e mastigação entre as amostras, visando evitar possíveis interferências de gostos residuais.

Após a análise estatística aplicada ao primeiro teste sensorial, foram selecionadas as três formulações mais aceitas, e assim, um novo teste foi aplicado.

#### 3.4.2 Segundo teste sensorial – Escala Hedônica de 7 pontos

Utilizando-se da escala hedônica de aceitação geral de sete pontos (7 = gostei muito e 1 = desgostei muito), conforme ficha apresentada em anexo avaliou-se o índice de aceitação entre as três amostras preferidas no primeiro teste sensorial.

Neste segundo teste participaram 50 provadores (estudantes e pós-graduandos da UFPR, Curitiba - PR) não treinados que declararam consumir produtos a base de soja pelo menos uma vez por semana. Para esta avaliação sensorial, as três amostras dispostas aos provadores seguiram as mesmas recomendações de apresentação, conforme descrito no teste anterior.

### 3.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Todas as análises físico-químicas da FB e das formulações de BFS adicionada de FB foram realizadas no Laboratório de Análises Físico-químicas do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná

#### 3.5.1 Determinações físico-químicas na farinha de bocaiuva e nas formulações de bebida fermentada de soja adicionadas de farinha de bocaiuva e *L. acidophilus*

O teor de umidade foi determinado por gravimetria a 105°C em estufa até obtenção de peso constante segundo técnica descrita por Instituto Adolfo Lutz (2006).

As cinzas (resíduo mineral fixo) foram determinadas pelo método gravimétrico (930.22), com calcinação em mufla a 550 °C (AOAC, 1998).

Análise de atividade de água (aw) determinada por meio de medidor de atividade de água portátil, marca AquaLab<sup>®</sup>.

A concentração de proteína foi determinada por nitrogênio total utilizando fator de conversão 6,25, através da técnica de *Kjeldahl*, conforme método 991.20 da AOAC (1998).

A determinação de extrato etéreo foi realizada por extração direta com éter de petróleo como solvente, em extrator *Soxhlet*, durante seis horas, de acordo com método 963.15 (AOAC, 1998).

O teor de fibra alimentar total foi obtido pelo método enzimático-gravimétrico através da ação das enzimas  $\alpha$ -amilase, protease e amiloglucosidase, sendo utilizadas amostras em quadruplicatas, das quais duas foram destinadas à análise de nitrogênio para correção da proteína e duas para análise de cinzas para correção de acordo com método 985.29, item 45.04.07 da AOAC (1998).

O teor de carboidratos foi obtido por diferença, reduzindo-se de 100 os teores de proteínas, extrato etéreo, cinzas, umidade e fibra alimentar total. Para determinar o valor energético, utilizaram-se valores calóricos para carboidratos

e proteínas igual a 4kcal/g e 9kcal/g para lipídeos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### 3.5.2 Determinações físico-químicas nas formulações de bebida fermentada de soja adicionadas de farinha de bocaiuva e *L. acidophilus*.

As análises de composição centesimal das formulações de BFS foram realizadas depois da retirada da umidade e seguiram os mesmos métodos descritos para as análises efetuadas para FB. As análises realizadas foram:

As determinações de acidez em ácido láctico (°Dornic) segundo AOAC (1998) e pH foram realizadas nas formulações de BFS durante etapa de fermentação e acompanhadas em seu período de estocagem nos tempos 7, 14, 21 e 28 dias.

O pH foi determinado através de potenciômetro, seguindo o método descrito pela AOAC (1998), número 31.1.07.

O teor de umidade foi determinado por gravimetria a 105°C em estufa até obtenção de peso constante segundo técnica descrita por Instituto Adolfo Lutz (2006). As cinzas (resíduo mineral fixo) foram determinadas pelo método gravimétrico (930.22), com calcinação em mufla a 550°C (AOAC, 1998).

A concentração de proteína foi determinada por nitrogênio total utilizando fator de conversão 6,25, através da técnica de *Kjeldahl*, conforme método 991.20 da AOAC (1998).

A determinação de extrato etéreo foi realizada extração direta com éter de petróleo como solvente, em extrator *Soxhlet*, durante seis horas, de acordo com método 963.15 (AOAC, 1998).

O teor de fibra alimentar total foi obtido pelo método enzimático-gravimétrico através da ação das enzimas  $\alpha$ -amilase, protease e amiloglicosidase, sendo utilizadas amostras em quadruplicatas, das quais duas foram destinadas à análise de nitrogênio para correção da proteína e duas para análise de cinzas para correção de acordo com método 985.29, item 45.04.07 da AOAC (1998).

O teor de carboidratos também foi obtido por diferença, onde reduziu-se de 100 os teores de proteínas, extrato etéreo, cinzas, umidade e fibra alimentar



total. Para determinar o valor energético, utilizaram-se valores calóricos para carboidratos e proteínas igual a 4kcal/g e 9kcal/g para lipídeos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### 3.5.3 Determinação dos carotenóides

Foram realizadas as determinações de carotenóides na FB e nas três formulações sensorialmente mais aceitas de BFS adicionadas de FB baseando-se a extração no procedimento descrito por RODRIGUEZ-AMAYA *et al.* (2001). Cerca de 25g de amostra foram trituradas com acetona resfriada, em liquidificador industrial. O material foi filtrado a vácuo utilizando um funil de Büchner. A extração com acetona e a etapa de filtração foram repetidas até o resíduo do filtro se tornar incolor. Em seguida, os pigmentos extraídos foram transferidos para um funil de separação contendo éter de petróleo e lavados com água destilada até a completa remoção da acetona.

O extrato etéreo separado foi concentrado em evaporador rotativo (temperatura inferior a 40°C), dissolvido em volume conhecido de acetona e filtração em filtro Millipore® de 0,2 µm para após ser submetido à análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Testes realizados preliminarmente por Kopper, Ribani e Porcu (2008), com amostra de FB demonstraram que a etapa de saponificação pode ser eliminada, não interferindo na obtenção dos resultados. Todas as etapas do procedimento foram realizadas utilizando proteção com papel alumínio, para assim evitar a foto degradação dos carotenóides.

A análise cromatográfica baseou-se em procedimento descrito por KIMURA e RODRÍGUEZ-AMAYA (2002). Utilizou-se cromatógrafo líquido de alta eficiência Merck Hitachi, equipado com injetor automático L-7250 (volume de injeção de 10 µL), sistema de detecção UV-VIS com varredura espectral L-7455, operando em 450 nm. A análise foi conduzida utilizando-se coluna Nova Pack® C18 (3,9 x 150 mm, 4 µm), mantida a 30 °C durante o período da análise. Utilizou-se como fase móvel Acetonitrila: Metanol: Acetato de Etila e Trietilamina (80:10:10 e 0,05%), com fluxo de 1 mL/min. Para a construção da

curva de calibração foi utilizado padrão  $\beta$ -caroteno Sigma tipo I sintético com aproximadamente 95% de pureza (C-9750).

A identificação do  $\beta$ -caroteno foi realizada comparando o tempo de retenção das amostras e o tempo de retenção do padrão, analisados sob as mesmas condições. A área dos picos foi utilizada para calcular o teor de carotenóides encontrado para cada amostra. A quantificação do  $\beta$ -caroteno foi realizada através do método de padronização externa. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

O cálculo de vitamina A foi realizado de acordo com as recomendações descritas pelo NAS-NRC (1989), onde 6  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno correspondem a 1  $\mu\text{g}$  de equivalente de retinol (ER).

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas e sensoriais foram tratados estatisticamente no *software R*, versão 2.8.1. Foi realizada análise de variância (ANOVA) e, havendo diferença estatisticamente significativa (*teste F*) entre as médias dos tratamentos, estas foram comparadas pelo teste de *Tukey* ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 FARINHA DE BOCAIÚVA

A farinha de bocaiúva obtida através do processamento artesanal da polpa apresentou cor alaranjada característica da presença dos pigmentos da polpa, textura homogênea e aparência uniforme, estando de acordo com características desejadas para seu emprego nas formulações de bebida fermentada de soja.

## 4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas para a FB e para as FBS podem ser visualizados na tabela 2 e 3 respectivamente.

TABELA 2 – ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DA FARINHA DE BOCAIUVA

AMOSTRA	MICROORGANISMO / LIMITE MÁXIMO (UFC) <sup>1</sup>		
	<i>Bacillus cereus</i> / g	<i>Coliformes</i> / g	<i>Salmonella sp</i> / 25g
	3 x 10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	AUSENTE
FB	< 10 <sup>2</sup>	< 10 <sup>2</sup>	AUSENTE

NOTA: <sup>1</sup>UFC: unidade formadora de colônia (BRASIL, 2001).

Os resultados demonstram que a FB elaborada no presente estudo apresentou contagens de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* inferiores aos limites e ausência de *Salmonella sp* seguindo os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira, o que confirma sua qualidade frente à adição nas formulações das BFS estudadas.

TABELA 3 – ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DAS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA ADICIONADA FARINHA DE BOCAIUVA E *L. acidophilus*

FORMULAÇÕES <sup>1</sup>	MICROORGANISMO / LIMITE MÁXIMO (UFC) <sup>2</sup>		
	<i>Bacillus cereu</i> s/ g	<i>Coliformes</i> / g	<i>Salmonella sp</i> / 25g
	5 x 10 <sup>2</sup>	10	AUSENTE
F1	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F2	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F3	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F4	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F5	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F6	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F7	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F8	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F9	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F10	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE
F11	< 10 <sup>2</sup>	< 10	AUSENTE

NOTA: <sup>1</sup>Tratamentos (Tabela 1); <sup>2</sup>UFC: unidade formadora de colônia (BRASIL, 2001)

O resultado da análise microbiológica realizada nas bebidas fermentadas apresentadas na Tabela 3 mostra que estas encontram-se dentro dos limites preconizados pela legislação, segundo a Resolução nº 12 de 2 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002) assegurando a qualidade microbiológica das amostras avaliadas pelos provadores nas análises sensoriais.

#### 4.3 ANÁLISE SENSORIAL

##### 4.3.1 Primeira avaliação sensorial - Teste de Preferência - Escala Hedônica de 9 pontos

Participaram deste teste sensorial, 80 julgadores, sendo 38% do sexo masculino e 62% do sexo feminino. A maioria dos julgadores possuía idade entre 20 e 45 anos entre estudantes e funcionários da UTFPR, Medianeira, Paraná. Quanto à preferência por produtos à base de soja, 80% dos provadores responderam que consomem com frequência algum tipo de produto contendo soja.

Na tabela a seguir estão apresentados os escores médios de cada atributo avaliado pelo painel sensorial.

TABELA 4 – RESULTADO DO TESTE DE PEFERÊNCIA (ESCALA HEDÔNICA DE 9 PONTOS), DAS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA DE SOJA ADICIONADA DE FARINHA DE BOCAIUVA E *L. acidophilus*

FORMULAÇÕES <sup>1</sup>	COR	ODOR	SABOR	TEXTURA	IMPRESSÃO GLOBAL
F1	6,98 ± 1,48 <sup>2</sup>	6,44 ± 1,60	5,95 ± 1,75	6,15 ± 1,79	6,73 ± 1,58
F2	6,69 ± 1,71	6,53 ± 1,36	6,01 ± 1,62	6,33 ± 1,65	6,19 ± 1,84
F3	6,38 ± 1,84	6,29 ± 1,53	5,61 ± 1,97	5,96 ± 1,87	6,09 ± 1,88
F4	6,96 ± 1,67	6,60 ± 1,54	6,01 ± 1,79	6,35 ± 1,61	6,64 ± 1,83
F5	6,20 ± 1,86	6,10 ± 1,60	5,36 ± 2,05	6,03 ± 2,05	6,40 ± 1,83
F6	6,36 ± 1,96	6,36 ± 1,63	5,65 ± 2,01	6,11 ± 1,92	6,18 ± 1,78
F7	6,64 ± 1,84	6,35 ± 1,44	6,22 ± 1,88	5,98 ± 1,98	6,49 ± 1,71
F8	6,35 ± 1,83	6,44 ± 1,58	5,63 ± 1,91	5,74 ± 1,82	6,24 ± 1,78
F9	6,94 ± 2,05	6,25 ± 1,57	5,64 ± 2,05	5,99 ± 1,80	6,06 ± 1,71
F10	6,87 ± 1,23	6,61 ± 1,25	5,74 ± 1,84	6,01 ± 1,57	6,38 ± 1,84
F11	6,58 ± 1,64	6,34 ± 2,05	5,94 ± 1,74	6,68 ± 1,52	6,27 ± 1,56

NOTA: <sup>1</sup>Formulações (Tabela 1); <sup>2</sup>média ± desvio padrão.

Através do tratamento estatístico dos dados, com a aplicação da análise de variância (ANOVA), observou-se que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os atributos de cor, odor, sabor, textura e impressão global entre os tratamentos conforme Tabela 4.

Todos os atributos avaliados apresentaram-se entre as categorias “*nem gostei nem desgostei*” e “*gostei regularmente*”, correspondendo ao escore entre 5 e 6 na escala hedônica de 9 pontos.

#### 4.3.1.2 Índice de aceitação das formulações de bebida fermentada de soja adicionada de farinha de bocaiúva e *L. acidophilus*

Segundo Teixeira *et al.* (1987) para que um produto seja considerado aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que obtenha um índice de aceitabilidade de no mínimo 70% .

A primeira impressão que se tem de um alimento é o aspecto visual, sendo a cor um dos principais aspectos observados na qualidade e aceitação de um produto (BOBBIO & BOBBIO, 1995).

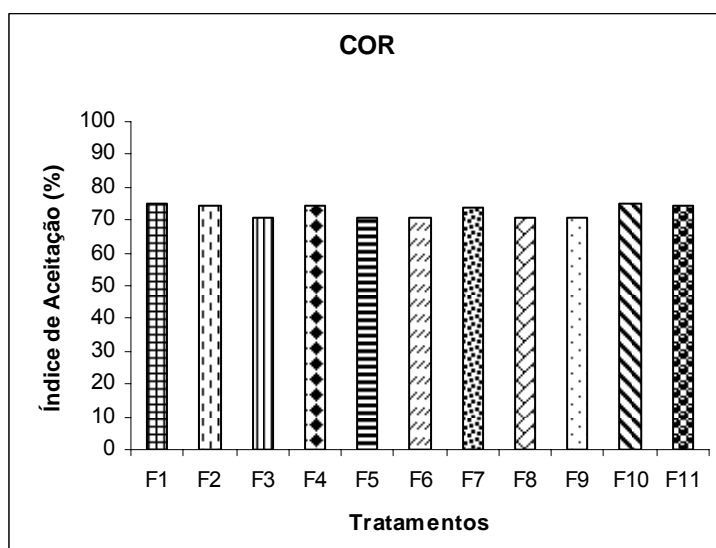


FIGURA 9 – ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES (TABELA 1) PARA O ATRIBUTO: COR

Foi observado que apesar das diferentes concentrações de FB incorporadas, esta variação no teor adicionado não foi observada visualmente

pelos julgadores pois a avaliação de cor apresentou um índice de aceitação acima de 70% para todas as formulações, conforme apresentado na Figura 9.

Na avaliação do atributo odor, foi relatada a percepção pelos provadores do odor característico de produtos a base de soja, entre as diferentes formulações. Embora não tenham apresentando diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ), as formulações F2, F4 e F10 apresentaram os maiores índices de aceitação, 72,5%, 72,4% e 73,4% respectivamente, conforme Figura 10.

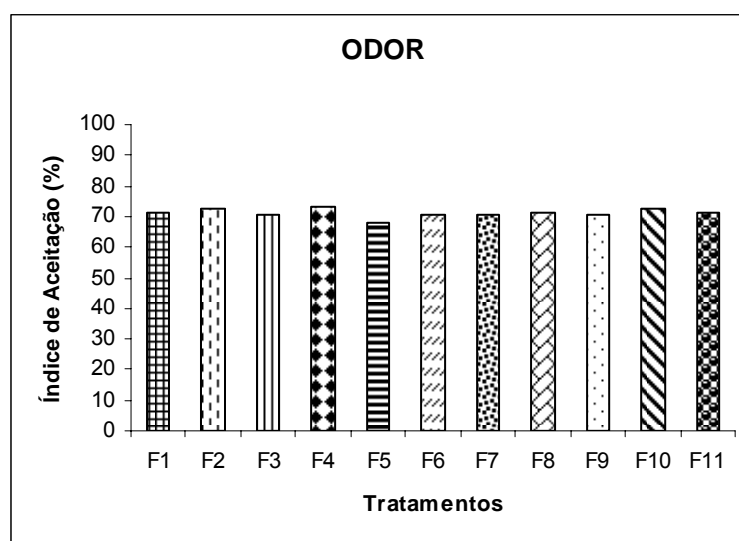


FIGURA 10 – ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES (TABELA 1) PARA O ATRIBUTO: ODOR

Em relação ao atributo sabor (Figura 11), nenhuma das formulações alcançou o índice mínimo de aceitação de 70%, apesar de todas apresentarem aceitação acima de 60%.

Felberg *et al.* (2004), estudou a aceitabilidade de uma bebida mista de extrato de soja integral e castanha-do-brasil, e a aceitação da bebida com 10% de EHS desprovida de lipoxigenases obteve índice de aceitação entre 4,2 a 4,5. A baixa aceitabilidade dos produtos elaborados com EHS está principalmente associada ao sabor adstringente característico. Este sabor é indesejável na elaboração de produtos a base de soja e ocorre devido aos compostos voláteis de baixo peso molecular produzidos durante o processamento dos grãos (GODOY *et al.*, 2003).

O estudo realizado por Behrens e Silva, (2004) sobre o comportamento de consumidores em relação a produtos a base de soja, concluiu que o mercado deve investir mais neste segmento, levando principalmente em consideração os aspectos sensoriais dos produtos como o sabor, principal item avaliado pelos consumidores, e divulgar de maneira ampla os benefícios a quem os consomem.

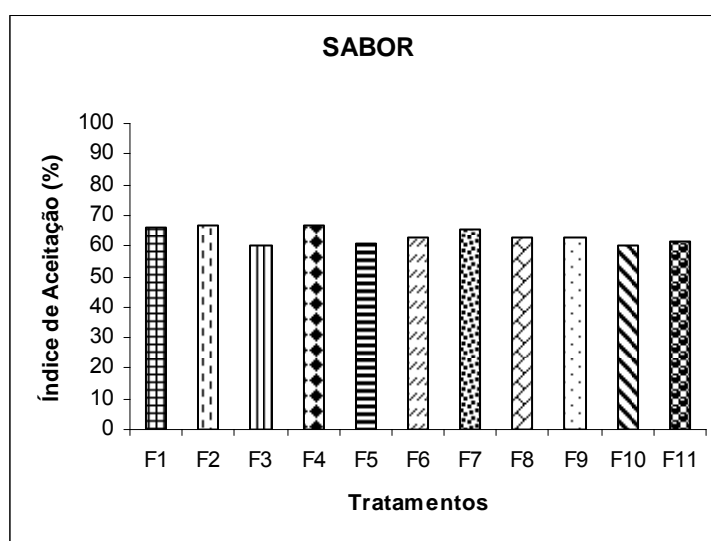


FIGURA 11 – ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES (TABELA 1) PARA O ATRIBUTO: SABOR

O índice de aceitação para o atributo textura variou de 63,7% a 70,6% para os tratamentos, sendo superior a 70% para as formulações F2 e F4, conforme Figura 12.

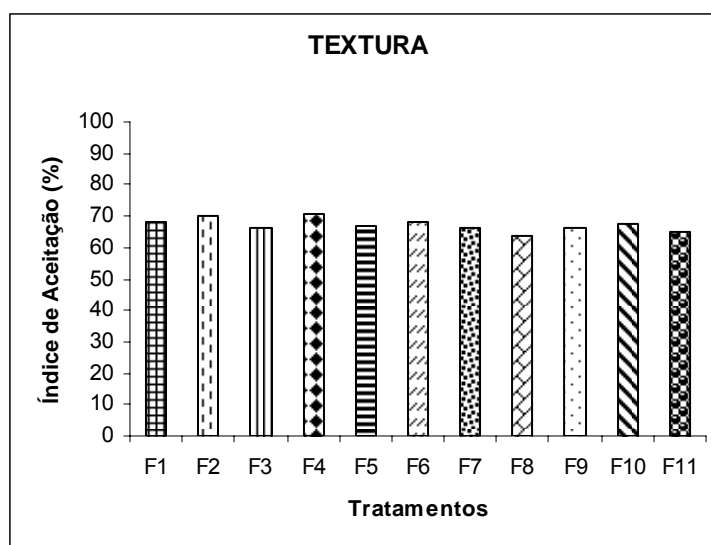


FIGURA 12 – ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES (TABELA 1) PARA O ATRIBUTO: TEXTURA

A “impressão global” foi definida como a impressão causada pelo produto como um todo, considerando-se os atributos cor, sabor, textura e aspecto visual.

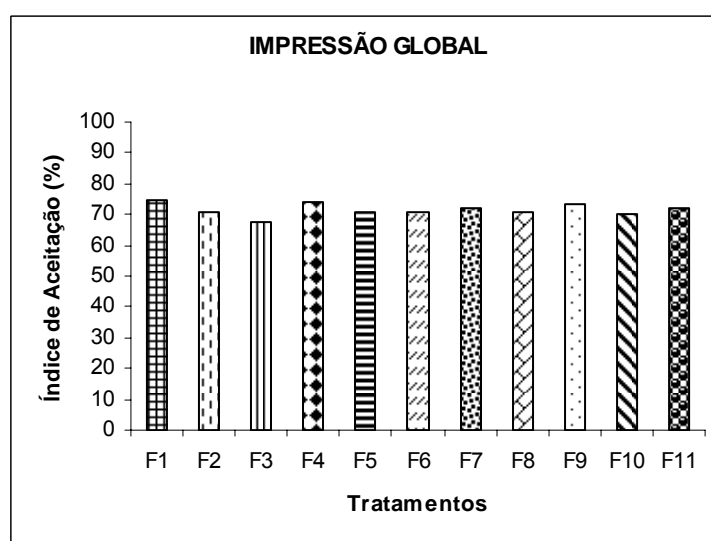


FIGURA 13 – ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES (TABELA 1) PARA O ATRIBUTO: IMPRESSÃO GLOBAL

De modo geral, o índice de aceitação das amostras variou de 67,3% a 75%, porém não havendo diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras (Figura 13). Seguindo com o objetivo em desenvolver uma bebida funcional fonte de fibras e vitamina A, as formulações: F3, F6 e F9 contendo



respectivamente em sua formulação 8%, 10% e 12% de EHS foram selecionadas, por apresentarem maior concentração de FB (5%) em comparação às demais estudadas (Tabela 1).

#### 4.3.2 Segunda avaliação sensorial - Teste de preferência – Escala Hedônica de 7 pontos

As formulações F3, F6 e F9 selecionadas no primeiro teste sensorial, foram submetidas ao teste de preferência de aceitação geral com Escala Hedônica de 7 pontos, para eleger entre as três formulações a melhor aceita sensorialmente.

Neste teste sensorial participaram 50 julgadores, onde 31% eram do sexo masculino e 69% do sexo feminino. A idade dos julgadores variou de 20 a 30 anos entre estudantes de graduação e pós-graduação da UFPR.

A Figura 14 apresenta o índice de aceitabilidade para as formulações F3, F6 e F9.

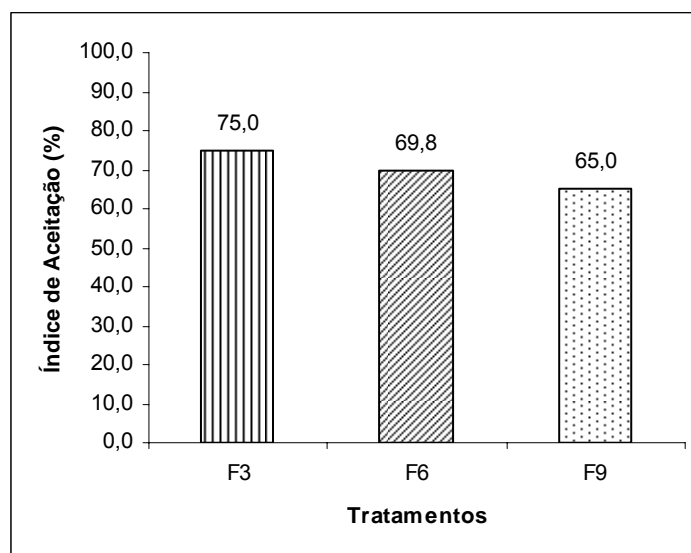


FIGURA 14 – ÍNDICE DE ACEITABILIDADE PARA ANÁLISE SENSORIAL DAS FORMULAÇÕES (TABELA 1) PARA AS FORMULAÇÕES F3, F6 E F9

Entre as formulações estudadas não houve diferença estatística a nível de 5%. Porém, a formulação F3 destacou-se por apresentar um índice de

aceitação (75%) superior às demais, sendo esta eleita a melhor formulação. Este resultado pode estar associado à concentração de EHS utilizada, visto que a formulação F3 possui a menor porcentagem em relação aos demais tratamentos (Tabela 1).

Granato *et al.* (2007), ao estudar a aplicação da FB nas concentrações 2.80% e 9.10% em iogurte, obteve índices de aceitação inferiores a 70%, assim a bebida desenvolvida nesse estudo, mesmo se tratando de uma bebida fermentada a base de soja, obteve aceitabilidade superior em relação ao iogurte.

Em estudo realizado com bebidas à base de EHS contendo *L. acidophilus* com polpa de pêssgo verificou-se um índice de aceitação de 80% (BARBOSA, 2007). Valin *et al.* (2003), analisando a aceitabilidade sensorial do EHS e suco de laranja com diferentes concentrações de proteína e ácido cítrico, apresentou um uma aceitabilidade de 7,2.

Krüger *et al.* (2008) ao desenvolver uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e EHS, concluiu que as formulações contendo 30% de EHS, 36,6% de leite de vaca e 33,3% de soro de leite foi a melhor aceita frente ao painel sensorial.

#### 4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

##### 4.4.1 Caracterização físico-química da FB

Os resultados das análises físico-químicas obtidos para a FB frente aos dados da polpa de bocaiúva para outros autores, estão apresentados na Tabela 5.

TABELA 5 – COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE BOCAIUVA EM RELAÇÃO AOS DADOS APRESENTADOS POR OUTROS AUTORES PARA POLPA DE BOCAIUVA, CALCULADA EM BASE SECA

Componentes g/ 100g	Presente trabalho <sup>1</sup>	Presente trabalho <sup>2</sup>	Hiane <i>et al.</i> (1990) <sup>2</sup>	Hiane <i>et al.</i> (1990) <sup>3</sup>	Silva <i>et al.</i> (2008) <sup>3</sup>	Ramos <i>et al.</i> (2008) <sup>3</sup>
aw	0,49 ± 0,04	---	---	---	---	---
Umidade	5,64 ± 0,07	---	---	---	---	---
Resíduo mineral fixo	1,87 ± 0,02	1,98	4,23	3,3	2,71	3,21
Lipídeos	19,73 ± 0,25	20,59	22,38	32,44	22,73	17,32
Proteínas	2,4 ± 0,11	2,54	4,5	3,87	4,2	3,19
Fibras	19,80 ± 0,73	20,91	---	---	16,96	29,27
Carboidratos*	48,83	51,74	69,22	60,32	53,38	46,97
Valor Calórico (Kcal/100g)	393,77	405,35	496,3	548,7	434,9	356,5
Vitamina A (µg/g)	39,40 ± 0,15	41,75	116,81 <sup>4</sup>	---	---	---

NOTA: Valores obtidos por diferença; <sup>1</sup> Médias e desvio padrão das determinações realizadas em triplicata; <sup>2</sup> Dados para Farinha de Bocaíuva em base seca; <sup>3</sup> Dados para Polpa de Bocaíuva em base seca; <sup>4</sup> Dado apresentado por Hiane, (1989a).

A atividade de água (aw) em alimentos é considerada fundamental em seu controle de qualidade, segundo Ferreira Neto *et al.* (2005), a maioria dos microrganismos cresce em meio com atividade de água no intervalo 0,90 a 0,99. Assim, a aw encontrada na FB apresentou-se abaixo desse valor podendo ser considerada microbiologicamente estável.

Os resultados de resíduo mineral fixo, proteínas, lipídeos e carboidratos determinados na FB em comparação aos da polpa de bocaíuva, calculados em base seca, estão próximos aos relatados por HIANE *et al.* (1989a), RAMOS *et al.* (2008) e SILVA *et al.* (2008), conforme apresentado na Tabela 5. Apenas o teor de proteínas (2,54 g/100g), ficou abaixo dos resultados apresentados por esses autores. A FB preparada mostrou-se um alimento altamente calórico (393,77 kcal/100g) e rico em fibras alimentares (19,80 g/100g).

O conteúdo de β-caroteno presente na amostra de FB (41,75 µg g<sup>-1</sup>) em base seca ficou muito inferior aos valores para polpa de bocaíuva em base seca de outra variedade (*Acrocomia mokayáyba* Barb. Rodr) reportados por HIANE e PENTEADO, (1989a) de 116,81 µg g<sup>-1</sup>. Essa diferença pode ser explicada pelas diferentes variedades de bocaíuva comparadas, mas

principalmente pelas perdas que ocorrem durante o processamento para obtenção da FB a partir da polpa.

Hiane e Penteado (1989b), no estudo realizado sobre as mudanças na composição dos carotenóides da bocaiúva pelo congelamento ( $-20^{\circ}$ ), verificaram que após 5 meses de estocagem o valor total de carotenóides representou um aumento de aproximadamente 22% em relação ao conteúdo inicialmente estudado. As autoras explicam esse aumento pela consideração de que as concentrações dos pigmentos que contribuem para a atividade vitamínica A, continuam com sua atividade de síntese, refletindo assim no valor de vitamina A. O trabalho de Hiane e Penteado (1989b) apresenta um teor de  $\beta$ -caroteno para FB de  $22,32 \mu\text{g g}^{-1}$  em base úmida, inferior a obtida para FB do presente trabalho ( $39,40 \mu\text{g g}^{-1}$ ) em base normal, esta preparada a partir de frutos armazenados em congelador por aproximadamente 6 meses. Esse teor também é superior ao encontrado em outras farinhas de frutas do cerrado, como a de bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.) com  $23,51 \mu\text{g g}^{-1}$  (HIANE *et al.*, 2003).

#### 4.4.2 Caracterização físico-química das formulações selecionadas sensorialmente de bebidas fermentadas de soja adicionada de farinha de bocaiúva e *L. acidophilus*

A Tabela 6 apresenta os resultados referentes às determinações físico-químicas das formulações F3, F6 e F9.

Considerando a composição química inicial da FB e do EHS (Apêndice 1) e os diversos fatores que influenciam em sua composição tais como, variedade, época de colheita e método de preparação, em geral, todos os tratamentos apresentaram resultados satisfatórios para composição físico-química.

TABELA 6 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS APÓS ANÁLISE SENSORIAL

DETERMINAÇÕES (g/100g)	TRATAMENTOS <sup>1, 2</sup>		
	F3	F6	F9
pH	4,41 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,44 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,42 ± 0,02 <sup>a</sup>
Umidade	81,66 ± 1,50 <sup>a</sup>	82,40 ± 1,15 <sup>b</sup>	81,31 ± 1,19 <sup>a</sup>
Resíduo mineral fixo	0,77 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,91 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,02 <sup>a</sup>
Lipídeos	3,23 ± 0,12 <sup>a</sup>	3,63 ± 0,10 <sup>a</sup>	3,80 ± 0,14 <sup>a</sup>
Proteínas	3,37 ± 0,06 <sup>a</sup>	3,53 ± 0,06 <sup>a</sup>	4,67 ± 0,22 <sup>b</sup>
Fibras	3,63 ± 0,10 <sup>a</sup>	3,85 ± 0,12 <sup>a</sup>	3,91 ± 0,01 <sup>a</sup>
Sólidos solúveis totais (°Brix)	10,76 ± 0,18 <sup>a</sup>	11,30 ± 0,27 <sup>a</sup>	11,82 ± 0,22 <sup>b</sup>
Carboidratos*	7,34 <sup>c</sup>	5,68 <sup>b</sup>	4,94 <sup>a</sup>
Valor Calórico (Kcal/ 100g)	71,91	69,51	72,64

NOTA: \*Valores obtidos por diferença; <sup>1</sup>Médias e desvio padrão das determinações realizadas em triplicata; <sup>2</sup>(Formulações Tabela 1).

Observou-se que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nos valores de pH, resíduo mineral fixo, lipídeos, fibras e sólidos solúveis totais (° Brix) entre as diferentes formulações de BFS adicionada de FB e LA.

O conteúdo de proteínas variou de 3,37 g/100g a 4,67 g/100g onde, F9 com a maior adição de EHS, diferiu estatisticamente das demais formulações, apresentando o maior teor de proteína.

Umbelino (2001) ao estudar a composição centesimal de um “iogurte de soja” encontrou um teor de proteínas de 3,54% e 3,40%. Rodrigues (2008) ao estudar uma bebida de extrato de soja adicionado de polpa de pêsego, encontrou um teor de proteínas de 2,23 %. O mesmo autor relata que as bebidas a base de EHS disponíveis no mercado fornecem uma quantidade de proteína de soja baixa, entre 0,6 e 1,4%, e que isto pode estar ligado às dificuldades tecnológicas encontradas em seu desenvolvimento, como em relação aos aspectos sensoriais negativos da soja, isto quando se trabalha com percentuais de EHS mais elevados. Ou seja, quanto maior a concentração de EHS, menos aceito será pelos consumidores.

A adição de FB resultou em teores de fibras alimentares entre 3,63 e 3,91 g /100g caracterizando as formulações como fonte de fibras, conforme o estabelecido pela Portaria nº 27, de 13/01/98 por apresentarem teores de fibra alimentar superiores a 3g /100g.

#### 4.4.3 Valores de acidez (°D) e pH durante o processo de fermentação das formulações selecionadas sensorialmente

A evolução dos parâmetros de acidez e pH durante a fermentação das formulações F3, F6 e F9 estão apresentadas na Tabela 7, onde se observa que os valores da acidez tiveram um aumento gradativo apresentando-se ao final da fermentação dentro da faixa estabelecida para bebidas lácteas na legislação brasileira, que é de 60 a 150 °D (BRASIL, 2005).

De acordo com Pinthong *et al.* (1980), uma acidez superior a 1,2% (120 °D) resulta em produtos com sabor ácido desagradável o que compromete sua aceitação frente a um painel sensorial.

Devido à mesma quantidade de inóculo e cultura probiótica adicionada nas formulações e ao controle da temperatura entre 40 a 45°C, todas apresentaram um tempo de fermentação de aproximadamente 360 minutos, atingindo pH ideal entre 4,41 a 4,44. Observou-se que as diferentes concentrações de EHS, não influenciaram no tempo de fermentação, conforme também relatado por Fávaro-Trindade *et al.* (2001).

Todas as formulações apresentaram pH menor que 4,6, o que é recomendado sob ponto de vista tecnológico, uma vez que o ponto isoelétrico das proteínas da soja apresentou-se em torno de 4,6 e 4,7. A importância em se alcançar um pH inferior a este valor, é uma das formas de evitar a sinerese no produto final (BRANDÃO, 1995).

TABELA 7 – ANÁLISES DE pH DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS DURANTE FERMENTAÇÃO

TEMPO (horas)	TRATAMENTOS <sup>1,2</sup>					
	F3		F6		F9	
	pH	Acidez (°D)	pH	Acidez(°D)	pH	Acidez(°D)
1	6,35 ± 0,01 <sup>a</sup>	18	6,66 ± 0,01 <sup>a</sup>	16	6,68 ± 0,01 <sup>a</sup>	18
2	5,84 ± 0,08 <sup>a</sup>	26	6,34 ± 0,02 <sup>a</sup>	28	6,42 ± 0,04 <sup>a</sup>	29
3	5,45 ± 0,00 <sup>a</sup>	33	5,72 ± 0,02 <sup>a</sup>	37	5,87 ± 0,03 <sup>a</sup>	41
4	4,95 ± 0,02 <sup>b</sup>	41	5,38 ± 0,05 <sup>a</sup>	45	5,42 ± 0,05 <sup>b</sup>	47
5	4,65 ± 0,01 <sup>a</sup>	53	4,85 ± 0,01 <sup>a</sup>	57	4,91 ± 0,03 <sup>a</sup>	54
6	4,41 ± 0,01 <sup>a</sup>	60	4,44 ± 0,03 <sup>a</sup>	62	4,42 ± 0,02 <sup>a</sup>	65

NOTA: <sup>1</sup> Médias e desvio padrão das determinações realizadas em triplicata <sup>2</sup> (Formulação Tabela 1). Letras iguais na mesma linha não apresentaram diferença estatística a nível de 5%.

Segundo Antunes (2004), formulações onde o pH se apresenta levemente abaixo de 4,9 observam-se a formação de um gel característico ao formado em iogurtes e também, quando a fermentação prossegue até pH 4,6 a estabilidade do produto aumenta.

Segundo Tamime e Robinson (1991), a temperatura ideal para a inoculação da cultura láctica deve estar entre de 40 a 45°C por um período variável entre 2,5 a 5 horas resultando no ótimo desenvolvimento das culturas.

Umbelino *et al.* (2001) ao desenvolver uma bebida fermentada, obteve um tempo médio de fermentação de 240 minutos com um pH de 4,46. Rossi (1983) ao desenvolver um “iogurte” formulado com soro de leite e extrato aquoso de soja observou um tempo de fermentação em torno de 310 minutos para um pH final de 4,4.

Dave e Shah (1997), obtiveram tempos de fermentação que variaram de 210 a 360 minutos utilizando culturas lácticas mistas compostas de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* na fabricação de iogurtes, concordando com o tempo de fermentação do presente estudo, mesmo que neste não se tenha utilizado *Bifidobacterium*.

Pereira (2002), ao utilizar em seu estudo culturas tradicionais (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) e probióticas (*L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.) observou que o tipo de cultura interfere significativamente no tempo de fermentação.

#### 4.4.4 Evolução dos parâmetros de pH e acidez durante o tempo de armazenamento das formulações selecionadas sensorialmente

Pode-se observar que durante o período de armazenamento da bebida, o pH apresentou diminuições consideráveis, inicialmente variando de 4,41 a 4,44 respectivamente para F3 e F6, chegando a 3,78 e 3,83 respectivamente para F6 e F3 no 28º dia de armazenamento, conforme dados da Tabela 8.

TABELA 8 – ANÁLISES DE pH E ACIDEZ DOS TRATAMENTOS (F3, F6 E F9) DURANTE O TEMPO DE ARMAZENAMENTO.

TEMPO (dias)	TRATAMENTOS <sup>1</sup>					
	F3		F6		F9	
	pH	Acidez (°D)	pH	Acidez (°D)	pH	Acidez (°D)
0	4,41 ± 0,01	60	4,44 ± 0,03	62	4,42 ± 0,02	65
7	4,28 ± 0,02	65	4,23 ± 0,03	67	4,32 ± 0,02	66
14	4,13 ± 0,02	71	4,09 ± 0,01	73	4,18 ± 0,01	77
21	3,98 ± 0,04	78	3,93 ± 0,02	76	3,95 ± 0,01	82
28	3,83 ± 0,02	81	3,78 ± 0,04	80	3,81 ± 0,02	85

NOTA: <sup>1</sup> Médias e desvio padrão das determinações realizadas em triplicata <sup>2</sup>Formulações (Tabela 1).

Segundo Tamime & Robinson (1991) o valor de pH interfere na atividade metabólica das bactérias, podendo ser favorável ou não para determinado grupo de bactérias, como no caso das bactérias do gênero *Lactobacillus* que crescem e toleram valores de pH mais baixos do que as do gênero *Streptococcus*.

Durante o período de armazenamento observou-se uma redução no pH das formulações de 4,44 a 3,78, não havendo diferença estatística a nível de 5% entre os tratamentos para cada tempo. Este valor final manteve-se próximo do pH 4,5 que é desejável para a prevenção do crescimento de micro-organismos patogênicos e também importante sob o ponto de vista sensorial, pois garante ao produto final um sabor mais suave (PEREIRA, 2002).

Conforme Tabela 8, no primeiro dia de análise os valores de acidez para as formulações F3, F6 e F9, foram de 60, 62 e 65 °D respectivamente, aumentando gradativamente até atingir 81, 80 e 85 °D no 28º dia de armazenamento, o que corresponde a um aumento de 13,5%, 12,90% e 13,08% , respectivamente.

Lourens-Hattingh e Viljoen (2001), após realizar estudos com bebidas fermentadas, observou que o aumento excessivo pós-acidificação pode ocorrer principalmente quando há o crescimento desordenado de *L. bulgaricus* a baixos valores de pH.

Probióticos como *Lactobacillus acidophilus*, além de trazer benefícios nutricionais a quem os consomem, promovem uma acidificação mais lenta (° Dornic) após seu processamento, o que ajuda a manter a contagem das



bactérias probióticas até o final do armazenamento (GOMES e MALCATA, 1999).

#### 4.4.5 Carotenóides pró-vitamínicos A

A determinação do  $\beta$ -caroteno permitiu mensurar a quantidade de vitamina A presente nas formulações de bebida fermentada de soja adicionada de farinha de bocaiúva, sendo calculadas seguindo as recomendações de NAS/ NRC, (2001) conforme valores apresentados na Tabela 9.

TABELA 9 – CONCENTRAÇÃO DE  $\beta$ -CAROTENO ( $\mu\text{g/g}$ ) E VALORES DE VITAMINA A (ER/100G) NAS FORMULAÇÕES DE BFS ADICIONADA DE FB E LA.

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÃO $\beta$ -CAROTENO ( $\mu\text{g/g}$ ) <sup>1</sup>	VALOR DE VITAMINA A (ER/100g)
F3	4,74 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	79 <sup>a</sup>
F6	5,29 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>
F9	5,58 $\pm$ 0,22 <sup>b</sup>	93 <sup>c</sup>

NOTA: <sup>1</sup>Média e desvio padrão de três determinações. Letras iguais na mesma linha não apresentaram diferença estatística a nível de 5%.

Todas as formulações foram submetidas às mesmas condições de desenvolvimento, no entanto, durante seu processamento podem ocorrer perdas vitamínicas. Isto pode ser visualizado para a formulação F3 que apresentou menor teor de  $\beta$ -caroteno, estatisticamente diferente a nível de 5% das formulações F6 e F9 apesar de todas terem em sua composição a mesma porcentagem de FB adicionada (Tabela 1).

A Portaria nº 31/98, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil 1998), define como “alimento rico em minerais e vitaminas” como “aquele que contém no mínimo 15% da VDR de referência por 100 gramas de alimento líquido”.

Calculando-se a proporção da riqueza vitamínica das formulações com relação à VDR (Brasil 2005), presente na Tabela 10, observa-se que, as formulações F3 e F6 correspondem respectivamente a 15,8% e 17,6% da recomendação da IDR para crianças de 1 a 10 anos. Já para F9 o valor de

vitamina A encontrado corresponde a 15% da VDR para adultos. Assim adição de 5% de FB nas formulações de BFS foi suficiente para o desenvolvimento de um alimento rico nesta vitamina.

TABELA 10– RECOMENDAÇÕES DIÁRIAS DE VITAMINA A

CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA A VDR <sup>1</sup> (µ/g)	FAIXA ETÁRIA
400	1-3 anos
450	4-6 anos
500	7-10 anos
600	adultos (≥ 19 anos)

<sup>1</sup> Valores Diários Recomendados (BRASIL, 2005).

Além da sua atividade como pró-vitamínico A, os carotenóides estão relacionados com a prevenção de doenças cardíacas, prevenção de câncer e diminuição do risco de catarata. Vale salientar ainda que segundo Hiane e Penteado (1989a) que analisaram os carotenóides presentes na bocaiúva, o  $\beta$ -caroteno corresponde a 80% dos carotenóides da fruta.

Este trabalho demonstra que uma pequena adição de farinha a base de frutas pouco conhecidas como a bocaiúva, resulta num enriquecimento nutricional das bebidas fermentadas desenvolvidas, vindo de encontro com as tendências do mercado de alimentos definidos como saudáveis.

#### 4.5 CONTAGEM DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS

A Tabela 11 apresenta os valores médios (UFC/mL) da contagem de bactérias probióticas de *L. acidophilus* durante o período de armazenamento à 7°C.

A contagem do número de células viáveis do microrganismo probióticos *L. acidophilus* variou de 10,36 LOG UFC/ml para o primeiro dia a 7,15 LOG UFC/ml após os 28 dias de armazenamento. Os valores encontrados estão de acordo com Brasil (2000) que estabelece uma contagem mínima de 7 LOG UFC/mL no produto final, qualificando todas as formulações de BFS adicionada

de FB e LA como alimento funcional, mesmo após 28 dias de armazenamento sob temperatura de  $7 \pm 1^\circ\text{C}$ .

TABELA 11 - CONTAGEM MICROBIOLÓGICA DE *L. acidophilus* DURANTE O PERÍODO DE 0, 7, 14, 21 E 28 DIAS

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÃO (LOG UFC/ ml)				
	TEMPO (dias)				
	0	7	14	21	28
F3	$10,62 \pm 0,10$	$10,12 \pm 0,06$	$9,38 \pm 0,06$	$8,73 \pm 0,16$	$7,26 \pm 0,63$
F6	$10,36 \pm 0,16$	$9,92 \pm 0,14$	$9,29 \pm 0,23$	$8,54 \pm 0,07$	$7,15 \pm 0,42$
F9	$10,45 \pm 0,06$	$10,23 \pm 0,08$	$9,47 \pm 0,18$	$8,24 \pm 0,38$	$7,37 \pm 0,26$

NOTA: <sup>1</sup> Médias e desvio padrão das determinações realizadas em triplicata <sup>2</sup> (Ver descrição das formulações Tabela 1).

Os *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* durante o período de armazenamento das bebidas fermentadas possuem uma atividade metabólica que resulta na produção de ácidos orgânicos que causam uma diminuição na atividade fermentativa das células probióticas. Mesmo assim, o *L. acidophilus* tolera uma acidez mais elevada, mas resulta no decréscimo da contagem de células viáveis (DONKOR *et al.*, 2006).

Dave & Shah (1997), estudaram a viabilidade das bactérias probióticas armazenadas sob refrigeração e baixo pH, e concluíram que o *L. acidophilus* pode ser afetado pela presença do *L. bulgaricus*.

Os resultados mostraram que com a utilização de culturas contendo micro-organismos probióticos, o produto apresentou contagem suficiente para promover efeitos terapêuticos à saúde do consumidor. Segundo Antunes (2001) o *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp. também podem contribuir para os efeitos tecnológicos, como reduzir a pós-acidificação do iogurte e leites fermentados.

A figura 15 apresenta o decréscimo da contagem de *Lactobacillus acidophilus* nas formulações F3, F6 e F9 durante o período de 28 dias, com características de um ciclo logarítmico.

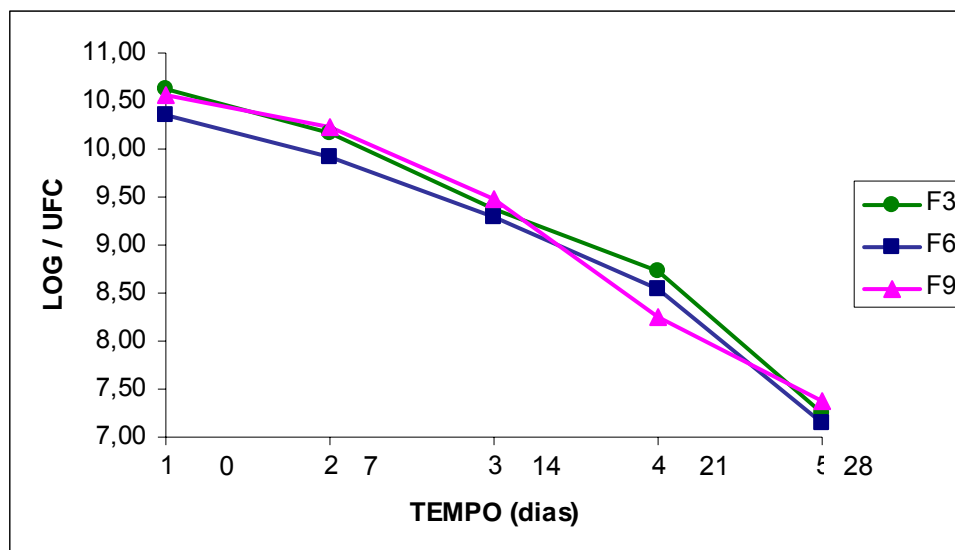


FIGURA 15 – CONTAGEM DE *L. acidophilus* DURANTE TEMPO DE ARMAZENAMENTO.

## CONCLUSÕES

A farinha de bocaiuva obtida apresentou-se dentro das características desejadas, apresentando cor característica, estando livre de impurezas e assim, apta para sua incorporação às formulações de bebida fermentada de soja.

A farinha de bocaiúva mostrou-se uma importante fonte de nutrientes, sendo rica em  $\beta$ -caroteno ( $39,40 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e fibras ( $20,91 \text{ g/ } 100\text{g}$ ), podendo ser utilizada no desenvolvimento de alimentos e contribuindo com o enriquecimento da dieta regional em programas de suplementação alimentar como uma fonte natural de fibras e de vitamina A.

Todas as formulações preparadas com adição de FB, EHS e LA após análise sensorial não apresentaram diferença estatística a nível de 5%, assim seguiu-se com o objetivo de desenvolver uma bebida funcional fonte de fibras e vitamina A, selecionando F3, F6 e F9 com adição de 8, 10 e 12% de EHS respectivamente, por apresentarem maior concentração de FB (5%).

Todas as formulações preparadas apresentaram-se dentro dos padrões de identificação e qualidade para alimentos conforme a legislação vigente (Brasil, 2000), estando aptas para o consumo.

Após análise sensorial através de escala hedônica de 7 pontos, a formulação com 5% de FB e 8% de EHS apresentou um índice superior a 70% de aceitabilidade, sendo a preferida pelo painel sensorial.

As três formulações selecionadas sensorialmente foram caracterizadas como alimentos fontes de fibras alimentares, apresentando um teor de fibras superior a  $3\text{g/}100 \text{ g}$  conforme estabelecido por Brasil (2000).

A adição de 5% de FB nas formulações de BFS foi suficiente para o desenvolvimento de um alimento rico nesta vitamina, pois as formulações 8% (F3) e 10% (F6) de EHS corresponderam respectivamente a 15,8% e 17,6% da recomendação da IDR para crianças de 1 a 10 anos e a formulação com 12% EHS (F9), correspondeu a 15% da IDR para adultos.

Após o período de armazenamento de 28 dias, a contagem de *Lactobacillus acidophilus* nas três formulações selecionadas sensorialmente decresceu conforme esperado, porém permaneceu superior a contagem

mínima de 7 LOG UFC/mL, o que de acordo com a legislação, torna-o um alimento probiótico durante todo este período.

Observando o teor de fibras, a riqueza em vitamina A e a presença de micro-organismos probióticos, as formulações com 5%,8% ; 5%,10% e 5%,12% de FB e EHS respectivamente, podem ser caracterizadas como alimentos funcionais segundo o conceito para esse fim.

## REFERÊNCIAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12806**: Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 38 p. 1999

AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.2, p.233-243, mar/abr 2006.

AMARAL, F. P. Estudo das características físico-químicas dos oleos da amêndoa e polpa da macaúba (*Acrocomia Aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart). 52f. Dissertação (Mestrado ) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145- 154, 2004.

ANTUNES, L.A.F. Micro-organismos probióticos e alimentos funcionais. **Revista Industrialização de Laticínios**, São Paulo, v. 6, n. 34, p. 30-34, 2001.

ANTUNES, A. E. C. **Influência do concentrado protéico do soro de leite e de culturas probióticas nas propriedades de iogurtes naturais desnatados**. 2004. 219 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde**, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official method of analysis of AOAC international**. 16. ed. Arlington, v. 1, 1998.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official method of analysis of AOAC international**. 17. ed. Gaithersburg, v. 1, 2000.

ARBOLES del area del canal de Panamá, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. Disponível em: <<http://www.ctfs.si.edu/webatlas/spanish/acropa.html>> Acesso em: 18/07/2008.

ARRUDA, A.C.; BENTES, M.H.S.; SERRUYA, H. Avaliação quantitativa do teor de beta-caroteno em oleaginosas da Amazônia. **Anais do 3º Encontro de Profissionais de Química da Amazônia**, p. 243-249, Manaus, maio, 1982.

ARRUDA, A.C.; ARRUDA, M.S.P.; BENTES, M.H.S.; SERRUYA, H. Quantificação de beta-caroteno em nove espécies vegetais. **Anais do 4º Encontro de Profissionais de Química da Amazônia**, p.147-154, Belém, dez., 1983.

BARBOSA, E. G. **Prevalência de bactéria probiótica *Lactobacillus acidophilus* NCFM em extrato de soja fermentado e saborizado com sacarose e polpa de pêssego**. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos de funcionalidade, de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e cultura lácteas probióticas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, n. 2, p. 99-106, 2001.

BEHRENS, J. H., DA SILVA, M. A. A. P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados – **Revista Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, 24(3): 431-439, jul. – set. 2004

BERNHARDT, S.; SCHLICH, E. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. **Journal of Food Engineering**, 77, 327-333, 2006.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Manual de laboratório de química dos Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995, p. 129.

BONDAR, G. **Palmeiras do Brasil**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1964. p. 500-554.

BRANDÃO, S.C.C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Leite e Derivados**, v.5, n.25, p.24-38, Nov./Dez., 1995.



BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 6, n. 37, p. 64-66, 2002.

BRASIL. Resolução portaria nº15 de 30 de abril de 1999. Regulamentação para alimentos funcionais Aprova as Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos), relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 de julho de 1978.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998: Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). Diário Oficial da União, Brasília, DF, janeiro de 1998, 4 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n. 31, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos adicionados de nutrientes essenciais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 16 de janeiro de 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. MAPA. Resolução nº 5 de 13/11/2000 – Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. MAPA. Resolução nº 5 de 13/11/2000 – Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, 2000.

BRASIL. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos, Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Brasília, 2 de Janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=>>> Acesso em: 10/05/07.

BRASIL. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005, Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Brasília, 24 de agosto de 2005. Seção 1, p. 7.

CONWAY, P. Prebiotics and human health: the state –of-the-art and future perspectivas. **Scandinavian Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, p. 13-21, 2001.

CHO SS, DREHER ML,. **Handbook of Dietary Fiber**. New York: Marcel Dekker, Inc; 2001.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Viability of yogurt and probiotic, in yogurt made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997.

DE ANGELIS, R. C. **Fome Oculta**: Bases fisiológicas para reduzir seu risco. São Paulo: Atheneu, 1999.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 10, p. 1181-1189, 2006.

DREHER ML. Food industry perspective: functional properties and food uses of dietary fiber. In: KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C, (Ed.). **Dietary fiber in health & disease**. Minnesota: Eagan Press, 1995. p. 467-74.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2007.

FARIAS, L. I. de. **Pães de fibras**. Disponível em: <[www.abrasnet.com.br/inst\\_em/sugest\\_art9.asp](http://www.abrasnet.com.br/inst_em/sugest_art9.asp)>. Acesso em: 10/08/07.

FÁVARO TRINDADE, C. S.; TERZI, S. C.; TRUGO, L.C.; DELLA MODESTA, R. C.; COURI, S. Development and sensory evaluation of soy milk based yoghurt. **ALAN**, vol.51, no.1, p.100-104, 2001.

FERREIRA, V. L. P. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000.

FERREIRA, C. L. L. F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. In: PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F. (Ed.). **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG – Centro Tecnológico – ILCT, 2001. p. 183-203.

FELBERG, I. DELIZA, R.; EGONÇALVES, R.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. C.; CABRAL, L. C. Bebida mista de extrato de soja integral e castanha-do-Brasil: caracterização físico-química, nutricional e aceitabilidade do consumidor. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 163-174, 2004.

FOOKS, L. J.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy journal**, v.9, p.53-61, 1999.

FRUITS FROM AMERICA - An ethnobotanical inventor. Disponível em: [http://www.ciat.cgiar.org/ipgrifruits\\_from\\_americas/frutales/Ficha%20Acrocomia%20aculeata.htm](http://www.ciat.cgiar.org/ipgrifruits_from_americas/frutales/Ficha%20Acrocomia%20aculeata.htm). Acesso em: 17/03/09.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.**, v.125, p.1401–1412, 1995

GODOY, R. C. B.; OLIVEIRA, A. C.; LEDO, C. A. Avaliação físico-química e sensorial de extrato hidrossolúvel de soja com polpa de manga. In: VIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2003, Curitiba. **Anais**, Curitiba: TecArt 2003. 1 CD-ROM.

GOMES, A.M.P., MALCATA, F.X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Bol. Biotecnol. Al.**, São Paulo, n. 64, p. 12-22, 1999.

GRANATO, D.; WIECHETECK, F. V. B.; RIBANI, R. H.; FREITAS, R. J. S. Sensory evaluation of stirred yogurts prepared with bocaiuva's dehydrated pulp. In: IX ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2007, Curitiba. **Anais**. Curitiba: TecArt 2007. p.469- 474. 1 CD-ROM.

GRAY, M. **Palm and Cycad Societies of Australia**. Disponível em: <<http://www.pacsoa.org.au/palms/Acrocomia/aculeata.html>> Acesso em: 20/04/09.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field Guide to the Palms of the Americas**. New Jersey: Princeton University, 1995. p.166-167.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C. Carotenóides e valor de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiúva (*Acrocomia mokayáya* Barb. Rodr.) do Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista de Farmácia- Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 158-168, 1989a.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C. Mudança na composição de carotenóides da bocaiúva (*Acrocomia mokayáya* Barb. Rodr.) com estocagem a 20°C. **Revista de Farmácia- Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 169-176, 1989b.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C.; BADOLATO, E. Teores de ácidos graxos e composição centesimal do fruto e da farinha da bocaiúva (*Acrocomia mokayáya* Barb. Rodr.). **Revista Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v.2, p.21-6, 1990.

HIANE, P. A.; BOGO, D.; RAMOS, M. I. L.; RAMOS FILHO, M. M. Carotenóides pró-vitamínicos A e composição em ácidos graxos do fruto e da farinha de bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 206-209, 2003.

HORNERO-MÉNDEZ, D.; BRITTON, G. Involvement of NADPH in the cyclization reaction of carotenoid biosynthesis. **FEBS Letters**, Oxford, v.515, n.1-3, p.133-136, 2002.

IDF. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. **Bull. Int. Dairy Fed.**, Brussels, n. 306, p. 23-33, 1999.

INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS (IFT). Sensory evaluations guide for testing food and beverage products. **Food Technol.**, Chicago, v. 35, n. 11, p. 50-57, 1981.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: IMESP, 2006.

NETO, C. J. F.; FIGUEIREDO, R. M.F.; QUEIROZ, A. J. M. Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas. **Ciência Agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 4, p. 795-802, jul./ago., 2005

FILHO-PRADO, L. G do, Umidade relativa de equilíbrio e oxidação de lipídeos em farinhas de castanha do pará, de macadâmia e de soja. *Sci Agric. Piracicaba*, 51 (2), 357-362, maio-agosto, 1994.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, v. 78, n. 3, p. 389-398, 2002.

KITAMURA, K. Genetic improvement of nutritional and food processing quality in soybean. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v.29, p.1-8, 1995.

KOPPER, A. C., RIBANI, R. H., PORCU, O. M. Carotenóides por CLAE em *Acrocomia aculeata*: tomada de decisão analítica – Resumo In: XII COLACRO, CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CROMATOGRAFIA E TÉCNICAS RELACIONADAS, 2008, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: 2008. 1CD-ROM.

KRUGER, R.; KEMPKA, A. P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R. L.; TREICHEL, H.; LUCCIO, M. D. Formulation of a probiotic milky drink using as substrates milk whey and soy hidrosoluble extract. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.1, p. 43-53, jan./mar. 2008.

LAYRISSE, M. García Casal, M. N.; Solano, L.; Barón, M. A.; Arguello, F.; Llovera, D.; Ramírez, J.; Leets, I.; Tropper, E. New property of vitamin A and  $\beta$ -carotene on human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption. **Arch Latinoam. Nutr.**, Guatemala, v. 50, p.243-248, 2000.

LEROY F., DE VUYST L., Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. **Food Science & Technology**, V15, p. 67-78, 2004.

LIU, K. S. **SOYBEANS: CHEMISTRY, TECHNOLOGY, AND UTILIZATION**. New York: Chapman and Hall, 1997. p. 415–418.

LORENZI, G. M. A. C. ***Acrocomia aculeata* (Lodd. ) ex Mart. – Arecaceae: Bases para o Extrativismo Sustentável**. 172f. Tese. (Doutorado em agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992, v. 1.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; BEHR, N. **Palmeiras do Brasil: exóticas e nativas**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1996, p. 1-20.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2001.

MANZANO, R. **Óleo de macaúba avança no mercado**. Disponível em: <<http://www.br.groups.yahoo.com.br/group/ecirtec/message/216>>. Acesso em: 23/03/09.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.12, p.173-182, 2002.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. **Acrocomia aculeata** Disponível em: <<http://www.mobot.mobot.org/cgi-bin/search>> Acesso em: 16/01/09.

MORCOTE-RIOS, G; BERNAL, R. Remains of palms (Palmae) at archaeological sites in the New World: a review. **The Botanical Review**, New York, v.67, n.3, p.309- 350, 2001.

MORAIS, A. A.; SILVA, A. L. **A soja: suas aplicações**. Rio de Janeiro: Medsi, p. 259, 1996.

MORAIS, HAJ-ISA, N.; M. A.; ALMEIDA, T. C. A.; MORETTI, R. H.; Efeito da desodorização nas características sensoriais de extratos hidrossolúveis de soja obtidos por diferentes processos tecnológicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26(1): 46-51, jan.-mar. 2006.

NAS-NRC. **Recommended Dietary Allowances**, National Academy of Science, Washington. 1989, p. 78-92.

NEGRELLE, R. R. B.; ZANIOLO, S. R.; LORENZI, G.M.C.; PINTO, G. B. S.; BRUEL, B. O.; PINTO, E. C. T.; SOUZA, M. C. Levantamento das espécies potencialmente fontes de produtos vegetais não madeiráveis da RPPN SESC Pantanal: resultados preliminares. In: **Conhecendo o Pantanal**. Várzea Grande: **SESC Pantanal**, n.1, p.71-76, 2002.

NEGRELLE, R.R.B.; CORREA, L. L.; PINTO, G. B. S.; ZANIOLO, S. R. Composição e estrutura do componente arbóreo de remanescente de floresta semidecidual da RPPN SESC Pantanal (Barão de Melgaço/MT) In: Congresso Nacional de Botânica, 54, Reunião Amazônica de Botânica, 3, 2003, Belém. **Anais**. Belém, 2003. 1CD\_ROM.

NEPA-Núcleo de estudos e pesquisas em Nutrição. Tabela brasileira de composição de alimentos, Segunda edição. p-113, 2006.

NEVES, L. S. **Fermentado Probiótico de Suco de Maçã**. 96 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

NUCCI, S. M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Subtropical e Tropical) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. Review. **Journal of Chromatography A**, v.881, p. 543-555, 2000.

OLSON, J.A. Vitamin A, retinoids, and carotenoids. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 8. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, v.1. Chapter 19. p. 287-307, 1993.

PEREIRA, M. A. G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na Acidificação e pós-acidificação de iogurtes**. 86 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

PINTHONG, R.; MACRAE, R.; ROTHWELL, J. The development of a soya-based yoghurt. I. Acid production by lactic acid bacteria. **Journal Food and Technology**, v.15, p.647 – 52, 1980.

PINTO, G.B. S. **Subsídios à geração de proposta de desenvolvimento para a região de Joselândia (Barão de Melgaço/MT): estudo etnobotânico**. 64p. Monografia.(Graduação Ciências Biológicas) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA A. M.; OKSMAN-CALDENTY K. M.; MYLLARINEN P.; SAARELA M.; MATTILA-SANDHOLM T.; POUTANEN K.

Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 3-11, 2002.

RAMALHO, R. A; FLORES, H.; SAUNDERS, C.; Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Pan. Am. Public Health**, 12, 117-123, 2002

RAMOS, M. I. L.; RAMOS FILHO, M.M; HIANE, P.A.; BRAGA NETO, J.A.; SIQUEIRA, E. M. de A. Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 28(supl): 1-5, nov. 2008.

ROBERFROID, M. B. Concept in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1398-1401, 1999.

ROCHE. Vitamina A. Disponível em  
<<http://www.roche.pt/vitaminas/vitamina/a.cfm>> Acesso em: 02/12/08.

RODRIGUES, R. S. **Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando a formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêssegos**. 200 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

RODRIGUES, R.S.; MORETTI, R.H. Caracterização físico-química de bebida protéica elaborada com extrato de soja e polpa de pêssegos. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.26, p. 101-110, 2008.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoides y preparación de alimentos**: La retencion de los carotenoides provitamina A em alimentos preparados, procesados y almacenados. OMNI: USA, 1999, p. 99.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; **Carotenoides and Food Preparation: The retention of provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods**. Arlington, U.S. Agency for International Development, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food**. Washington, D.C: International Life Sciences Institute, 2001. 65p.



SAARELA, M.; MOGENSEN G, FONDÉN R, MÄTTÖ J, MATTILA-SANDHOLM T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197–215, 2000.

SANDERS, T.A.B. Dietary Fat – Weighing up the Pros and Cons. **Nutrition & Food Science**, v.5, p.9-13, 1994.

SHAH, N.P.; ALI, J.F.; RAVULA, R.R. Populations of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*, and *Lactobacillus casei* in commercial fermented milk products. **Biosc. Microbiota**, v. 19, n. 1, p. 35-39, 2000.

SCARIOT, A.; LLERAS, E.; HAY, J. D. Flowering and fruiting phenologies of the palm *Acrocomia aculeata*: patterns and consequences. **Biotropica**, Washington, v.27, n.2, p. 168-173, 1998

SILVA, M. R.; LACERDA, DI. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. DE O. Caracterização química dos frutos do cerrado. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6, p.1790-1793, set, 2008.

SOUZA S. L.; BORONI A. P.M.; PINHEIRO-SANT'ANA H. M.; ALENCAR, E.R., Conteúdo de carotenos e provitamina A em frutas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais, **ACTA Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 453-459, 2004.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**, v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

SOUZA, W.A.; VILAS BOAS, O.M.G.C. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. **Rev. Panam. Salud Publica**, Washington, D.C., v. 12, n. 3, 2002.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: Ciencia y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991, p. 368

THEBAUDIN, J. Y.; LEFEBVRE A.C.; HARRINGTON M.; BOURGEOIS C.M. Dietary fibres: nutritional and technological interest. **Trends in Foods Science & Technology**, v. 8, 1997, p. 41-48.

TEIXEIRA, E. *Acrocomia aculeata* In: TASSARO, H. **Frutas no Brasil**. São Paulo: Empresa das Artes, 1996, p.15.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.M.; BARBETTA, P. A. **Análise Sensorial de Alimentos**. Florianópolis: UFSC, 1987, 180 p

UMBELINO, D.C.; ROSSI, E.A.; Aspectos tecnológicos e sensoriais do “iogurte” de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, p. 276-280, 2001.

VALIM, M. F.; ROSSI, E. A.; SILVA, R. S. F.; BORSATO, D. Sensory Acceptance of a functional beverage based on orange juice and soymilk. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 153-156, 2003.

VIRTUARTE. **Fibra alimentar**. Disponível em: <[www.virtuarte.com.br/mdesa/index2.html](http://www.virtuarte.com.br/mdesa/index2.html)>. Acesso em: 17 /07/07.

YUNEKURA, L. NAGAO, A, Intestinal absorption of dietary carotenoids. **Mol Nutr. Food**, p 107-115, 2007.

YUYAMA L. K. O; ALENCAR, F.H.; MARINHO, H. A.; COZZOLINO S. M. F. **Vitamina A e carotenóides** In Cozzolini S.M.F. Biodisponibilidade de nutrientes, Manole, 213-257, 2005.

WALZEM, R. L. Functional Foods. **Food Science and Technology**. v. 15, p. 518, 2004.

WANG, Y. C.; YU, R. C.; SHOU. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, v. 23, p. 128–135, 2006.

## **ANEXOS**

## PRIMEIRA ANÁLISE SENSORIAL – Escala Hedônica de 9 pontos

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2008

Idade: \_\_\_\_\_

Você irá receber 11 amostras codificadas de “iogurte de Soja” adicionado de Bociúva e *L. acidophilus*. Serão 3 grupos de amostra, onde irá se avaliar cada amostra utilizando a escala de valores abaixo para cada atributo:

- 9 = Gostei muitíssimo
- 8 = Gostei muito
- 7 = Gostei regularmente
- 6 = Gostei ligeiramente
- 5 = Não gostei, nem desgostei
- 4 = Desgostei ligeiramente
- 3 = Desgostei regularmente
- 2 = Desgostei muito
- 1 = Desgostei muitíssimo

AMOSTRA	ODOR	COR	SABOR	TEXTURA	APARÊNCIA GLOBAL
123					
295					
471					
751					
549					
710					
313					
173					
927					
624					
301					

Responda se você percebeu odor característico de produto a base de soja nas formulações.

( ) sim ou ( ) não

Observações: \_\_\_\_\_

## SEGUNDA ANÁLISE SENSORIAL – Escala Hedônica de 7 pontos

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Você está recebendo três amostras codificadas de “iogurte de Soja” adicionado de Bocaiúva. Avalie o quanto você gostou de cada uma das amostras utilizando a escala de valores abaixo:

- (7) gostei muitíssimo
- (6) gostei muito
- (5) gostei regularmente
- (4) nem gostei e nem desgostei
- (3) desgostei regularmente
- (2) desgostei muito
- (1) desgostei muitíssimo

Nº Amostra	Valor

## **APÊNDICE**

## Extrato de Soja - Provesol SM-N

## MARCA: PROVESOL SM-N

**Descrição:**

PROVESOL SM-N é um extrato protéico obtido a partir da emulsão aquosa dos grãos descorticados de soja (não modificada geneticamente), submetido a tratamentos térmicos adequados para inativação dos fatores antinutricionais. A fração solúvel é concentrada, e em seguida seca por processo de spray-drying, resultando em um ingrediente funcional, de alto valor nutritivo. Apresenta-se em forma de pó fino, de cor amarela clara e solúvel em água. É isento de ingredientes adicionais e quaisquer aditivos químicos. Também isento de lactose, sacarose, caseína e glúten.

Devido a suas características pode ser utilizado como substituto do leite e aplicado em iogurtes, tofu e em queijos com objetivos de coadjuvante tecnológico.

**Áreas de Aplicação:**

- Fermentados de soja sabor iogurte;
- Tofu;

**Benefícios:**

- Extrato de soja integral que apresenta alto índice de gorduras insaturadas sendo rico em ômega-3 e ômega-6;
- Substituir nestas aplicações o leite animal;
- 100% Vegetal;
- Isento de Lactose;
- Produto Não Transgênico;
- Alta solubilidade em água a temperatura ambiente (20 – 40°C);
- Sabor neutro;
- Adequado para fermentações por possuir açúcares probióticos como a rafinose e estaquiose e proporcionar um *flavour* diferenciado;

**Dosagens indicativas:**

- Fermentados de soja sabor iogurte: 6,0 – 8,0%;
- Tofu: 5 – 10%;

**Instruções de uso:**

Em caso de hidratação em água recomendamos a temperatura ambiente, preferencialmente misturado ao açúcar e estabilizante.

**Composição:**

Extrato de soja em pó.

**Propriedades:**

Forma: Pó;

Cor: Creme;

Sabor e odor: Neutro;

Solubilidade: Solúvel em água a temperatura ambiente.

**INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS –  
Provesol SM-N**

	100g	20g (2 colheres de sopa)	%VD (*)
Valor Energético	486 kcal	97 kcal	5%
Carboidratos	18,5 g	3,7 g	1%
Proteína	44 g	8,8 g	12%
Gorduras totais	26 g	5,2 g	9%
Gorduras saturadas	3,9 g	0,8 g	4%
Gorduras <i>trans</i>	0 g	0 g	**
Colesterol	0 mg	0 mg	0%
Fibra alimentar	1,5 g	0,3 g	1%
Sódio	36 mg	0 mg	0%
Cálcio	127 mg	25 mg	3%

Umidade	4,0 %
Cinzas	6,0 %

**PADRÕES MICROBIOLÓGICOS**

Contagem Padrão em placas	máx. 5 x 10 <sup>4</sup> UFC/g
Coliformes totais	máx. 10 NMP/g
Coliformes fecais	máx. 1 NMP/g
Salmonela	ausência em 25 g
Bolores e leveduras	máx. 1 x 10 <sup>3</sup> UFC/g

ventilado. Manter a embalagem corretamente fechada quando não estiver em uso.

**Embalagem**

PROVESOL SM-N é embalado em saco de papel Kraft multifoldado e revestido internamente com saco de polietileno. Peso líquido: 25 Kg.

**Armazenagem**

PROVESOL SM-N, em sua embalagem original, deve ser mantido sobre estrados em local seco e

**Prazo de validade**

9 (nove) meses.